

Aus der
Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. M. Schwaiger)
und aus dem
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
(Direktor: Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)
der
Technischen Universität München

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. med. M. Schwaiger und
Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt

Vorgelegt über den
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl)
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Pathologisch-anatomische und immunhistologische Untersuchungen des ischämischen
Schweinemyokards**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Christina Nimz
aus
Wiesbaden

München, 2004

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. A. Stolle
Referent:	Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl
Koreferent:	Univ.-Prof. Dr. W. Klee

Tag der Promotion: 13. Februar 2004

Meinen Eltern und meinem Bruder

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Schrifttum	3
2.1	Das Schwein als Myokardischämiemodell.....	3
2.1.1	Kollateralen am Herzen des Schweines und des Menschen	5
2.2	Die Koronare Herzkrankheit (KHK)	7
2.2.1	Allgemeines.....	7
2.2.2	Ursachen, Entstehungsmechanismen und Folgen der KHK.....	7
2.2.3	Vorkommen von Atherosklerose und Herzinfarkt beim Schwein.....	10
2.2.4	„Hibernating“ und „stunned“ Myokard.....	11
2.2.4.1	Frühschämische kontraktile Dysfunktion.....	12
2.2.4.2	Länger andauerndes „hibernating“ Myokard.....	13
2.2.4.3	Diagnose des „hibernating“ Myokards.....	15
2.2.4.4	Therapie von Koronarverengungen durch perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA).....	15
2.3	Nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden.....	16
2.3.1	Allgemeines.....	16
2.3.2	Prinzipien der Positronen-Emissions-Tomographie (PET)	17
2.3.2.1	Analyse der myokardialen Durchblutung.....	18
2.3.2.2	Analyse des Herzstoffwechsels	19
2.3.3	Magnetresonanztomographie (MRT)	21
2.3.4	Metabolische Veränderungen im ischämischen Myokard.....	21
2.3.5	Glukosetransporter (GLUT)	23
3	Eigene Untersuchungen.....	25
3.1	Zielsetzung	25
3.2	Material und Methoden	26
3.2.1	Versuchstiere und deren Haltung	26
3.2.2	Zeitplan (siehe auch Flussdiagramm Abb. 5, Seite 29).....	26
3.2.3	Versuchsdurchführung	30
3.2.3.1	Präparation des Gefäß verengenden Stents	30
3.2.3.2	OP-Vorbereitung	31
3.2.3.3	Anästhesie	31
3.2.3.4	Operatives Vorgehen zur Stentimplantation.....	32
3.2.3.5	Postoperative Versorgung	33
3.2.3.6	Operatives Vorgehen für Untersuchungen im PET und im MRT	34
3.2.3.7	Vitalitätsnachweis mit der Positronen Emissions Tomographie (PET).....	34
3.2.3.8	Messung der Wandbewegung und Vitalität mit der Magnetresonanztomographie (MRT).....	35
3.2.3.9	Euthanasie, Sektion und Probenentnahme.....	36
3.2.3.10	Auswertung der Myokardproben.....	39
3.2.3.11	Verarbeitung der Proben	40
3.2.3.11.1	Paraffinhistologie	40
3.2.3.11.2	Immunhistochemie	40
3.2.3.11.3	Histomorphometrie.....	43
3.2.4	Statistische Auswertung	44
3.3	Ergebnisse	45
3.3.1	Überlebensrate.....	45
3.3.2	Postmortale Untersuchungen.....	46
3.3.2.1	Pathologisch-anatomische Befunde an den Herzen.....	46
3.3.2.2	Histomorphometrische Ergebnisse.....	48
3.3.2.2.1	Ergebnisse der histomorphometrisch ermittelten Kollagenfläche (EvG-Färbung).....	48
3.3.2.2.2	Ergebnisse der Myofibroblastenflächenmessung (SMA-Färbung)	57
3.3.2.3	Ergebnisse der glykogenhaltigen Zellen (PAS-Färbung)	61
3.3.2.4	Ergebnisse des T-Zellengehaltes (CD 3- Färbung)	65
4	Diskussion	70
4.1	Einleitung	70
4.2	Material und Methoden	70
4.2.1	Wahl der Versuchstierspezies.....	70

4.2.2	Dauer des Versuchszeitraums.....	72
4.2.3	Überlegungen zum Versuchsmodell.....	72
4.3	Diskussion der eigenen Ergebnisse	73
4.3.1	Überlebensrate.....	73
4.3.2	Ergebnisse der pathologisch-histologischen Untersuchungen.....	74
4.4	Schlussfolgerung und Ausblick.....	77
5	Zusammenfassung.....	79
6	Summary	81
7	Literaturverzeichnis.....	83
8	Tabellenverzeichnis.....	99
9	Abbildungsverzeichnis.....	100
10	Abkürzungsverzeichnis	102
11	Danksagung	106
12	Lebenslauf.....	108

1 EINLEITUNG

Eine Minderdurchblutung des Herzmuskels galt ursprünglich als ein Alles-oder-Nichts-Ereignis, das entweder zur Nekrose des Muskels führte oder keinen bleibenden Schaden hinterließ. Für eine umschriebene kontraktile Minderfunktion wurde ausschließlich infarziertes Gewebe verantwortlich gemacht. Allmählich zeichnete sich jedoch ab, dass ihr möglicherweise auch eine reduzierte Funktion noch vitalen Gewebes zugrunde liegen kann. Dabei wurden folgende Krankheitsphänomene herausgearbeitet: das „hibernierende“ und das „stunned“ Myokard sowie die ischämische Präkonditionierung [HORT und ARNOLD, 2000]. Bei allen Phänomenen spielt die Ischämie eine wesentliche Rolle.

Erstmals erkannten DIAMOND et al. (1978), dass ein minderdurchbluteter, nicht infarzierter Myokardanteil in einem Zustand der „Hibernation“ (= Winterschlaf) verharren könne, und RAHIMTOOLA (1989) definierte diesen Begriff. Entscheidende Vorarbeiten hatten schon FLAMENG et al. (1981) geleistet. Sie fanden bei schwerer koronarer Herzerkrankung ohne Infarkt nach einer Bypassoperation eine Normalisierung reduzierter Wandbewegungen.

Die weitgehend ungeklärte Ätiologie der ischämischen Herzerkrankung macht eine intensive Forschung nach den veränderten molekularen pathophysiologischen Mechanismen des Myokardstoffwechsels sowie histologische Veränderung im ischämischen Herzmuskel erforderlich. HORT und ARNOLD (2000) wiesen auf das nicht einheitliche morphologische Bild des hibernierenden Myokards hin. Es handelt sich vielmehr um ein histologisches Bild mit allen Übergängen zwischen fast normaler Morphologie bis zum Fast-Infarkt, je nach Ausmaß der Minderdurchblutung.

Bei der koronaren Herzkrankheit (KHK) spielt der Glukosestoffwechsel bei der Adaption des Myokards an ischämische Bedingungen eine wichtige Rolle. Einen entscheidenden Fortschritt brachte die Positronen-Emissions-Tomographie (PET), weil sie nicht nur einen Einblick in den koronaren Blutfluss, sondern auch in Stoffwechselkomponenten erlaubt. Klinische PET-Untersuchungen ergaben im ischämisch geschädigten Herz eine erhöhte Aufnahme des Glukose-Analoges Fluor-18-Deoxyglukose (^{18}FDG) bei gleichzeitig verminderter Durchblutung, was auf noch vitales Gewebe mit gesteigertem Glukosemetabolismus hindeutet [KALFF et al., 1992].

Die molekularen Ursachen für diese Veränderungen sind unklar und spiegeln den momentan noch inkonsistenten und spärlichen Wissensstand wieder, was nicht zuletzt auch an der Schwierigkeit liegen mag, ein geeignetes In-vivo-Modell zu finden, das ischämisch bedingte Veränderungen des Stoffwechsels ähnlich dem menschlichen Krankheitsbild entwickelt.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, ein Tiermodell einer länger andauernden Myokardischämie („Hibernating Myokard“) zu etablieren und einen Beitrag zum besseren Verständnis der unterschiedlichen Ausprägungen der Veränderungen im histologischen Bild eines hibernierenden Myokards zu leisten. Die Immunhistochemie stellt eine wesentliche Ergänzungsmethode für die Diagnostik des hibernierenden Myokards dar [MARI und STRAUSS, 2002]. In der vorliegenden Arbeit wird die Expression des α -smooth muscle actin (α -SMA) der Myofibroblasten und der Gehalt an Entzündungszellen immunhistologisch nachgewiesen [SHIOJIMA et al., 1999]. In vielen Studien ist der CD 3 Antikörper als hochspezifischer Marker von T-Zellen eingesetzt worden [CAMPANA et al., 1987; PICKER et al., 1987; ANDERSON et al., 1991]. Der Fibrosegrad des Myokards (Elastica van Gieson Färbung) sowie Glykogeneinschlüsse der Zelle (PAS- Färbung) werden ebenfalls untersucht. Die Untersuchungen werden am 7. bzw. 28. Tag nach der Stentimplantation am Myokard des Schweines durchgeführt.

2 SCHRIFTTUM

2.1 Das Schwein als Myokardischämiemodell

Das Hausschwein wird von vielen Arbeitsgruppen, die sich mit der chronischen myokardialen Ischämie befassen, als Modell bevorzugt [FALLAVOLLITA et al., 2002]. Um die Stoffwechselvorgänge der koronaren ischämischen Herzerkrankung objektiv beurteilen zu können, sollte ein Tiermodell benutzt werden, das die Pathomechanismen des „Hibernating Myokards“ beim Menschen hinreichend simuliert.

Das Herz des *Schweines* ist im Verhältnis zum Körpergewicht mit nur ca. 0,30% des Körpergewichts beim Schwein gegenüber ca. 0,43% beim Menschen relativ klein. Die A. coronaria dextra (right coronary artery = RCA) geht als R. circumflexus im Sulcus coronarius in die Pars dextra über und zieht in den Sulcus interventricularis subsinuosus hinein. Die Ernährung der Wand der rechten Herzkammer sowie die Blutversorgung der Wand des rechten Atriums erfolgt über verschiedene, vom R. circumflexus dext. abgehende Äste. Die A. coronaria sinistra teilt sich in R. interventricularis paraconalis (left anterior descending coronary artery = LAD), der dem Sulcus interventricularis bis in die Herzspitze folgt. Der Stamm der A. coronaria zieht weiter als R. circumflexus (left circumflex coronary artery = LCX) im Sulcus coronarius bis zur Kaudalfläche des Herzens (Abb. 1a und 1b) [SCHUMMER und HABERMEHL, 1984].

Entsprechend der Verzweigung der Herzkranzarterien spricht man beim Schwein von einem „beidseitig koronaren Versorgungstyp“, der mit dem „ausgeglichenen Typ“ des Menschen vergleichbar ist. Hierbei sind beide Koronararterien zu gleichen Teilen an der Blutversorgung des Herzmuskels und Septums beteiligt [SCHUMMER und HABERMEHL, 1984].

In der kardialen Morphologie und in der Organisation der arteriellen Gefäßversorgung beim Schwein ist ein Grundmuster ähnlich dem des Menschenherzens zu erkennen. Zwei subepikardial verlaufende Koronararterien entspringen als einzige Äste der Aorta ascendens unmittelbar oberhalb der Semilunarklappen [ALLWORK, 1987].

Beim *Menschen* wird hinsichtlich der arteriellen Blutversorgung des Myokards zwischen drei verschiedenen Versorgungstypen differenziert, je nachdem welche Anteile des Myokards von der rechten oder der linken Herzkranzarterie versorgt werden [ANDERSON und BECKER, 1982].

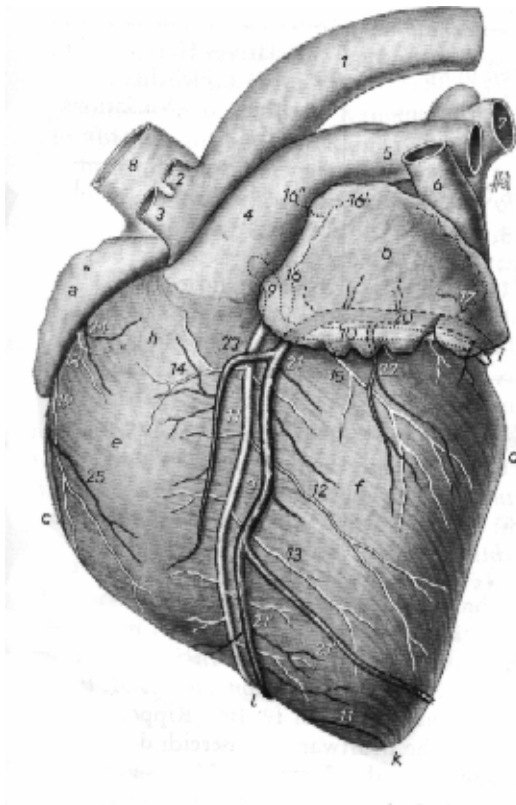


Abb. 1a

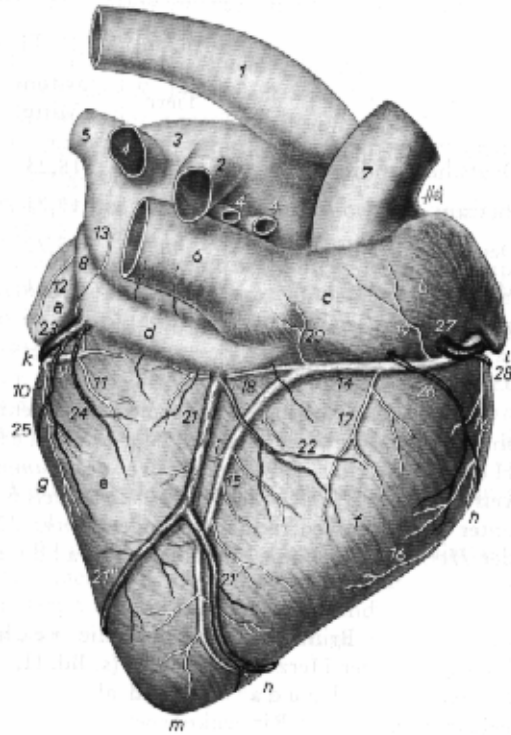


Abb. 1b

Abb. 1a: Facies auricularis eines Schweineherzens (aus SCHUMMER und HABERMEHL 1984)

a rechtes Herzohr, b linkes Herzohr, c Margo interventricularis sin., d Margo interventricularis dext., e Ventriculus dext., f Ventriculus sin., g Sulcus interventricularis paraconalis, h Conus arteriosus, i Sulcus coronarius sin., k Apex cordis, l Incisura apicis

1 Arcus aortae, 2 A. subclavia, 3 A. brachiocephalica, 4 Truncus pulmonalis, 5 A. pulmonalis, 6 V. azygos sin., 7 linke Lungenvenen, 8 V. cava cran., 9 A. coronaria sin., 10 ihr R. circumflexus (= LCX), 11 ihr R. interventricularis paraconalis (= LAD), 12 R. collateralis prox., 13 R. collateralis dist., 14 A. coni arteriosi der A. coronaria sin., 15 R. prox. Ventriculi sin., 16 R. prox. atrii sin., 16' sein zur Herzohrbasis ziehender Ast, 16'' sein zur Wand des linken Vorhofs ziehender Ast, 17 R. intermed. atrii sin., 18 A. coni arteriosi der A. coronaria dext., 19 R. prox. Ventriculi dext., 20 bzw. 21 V. cordis magna, 20 ihr R. circumflexus, 21 ihr R. interventricularis paraconalis, 22 V. ventriculi sin., 23 Begleitast des R. interventricularis paraconalis der V. cordis magna, 24 V. coni arteriosi, 25 R. ventricularis dext. der V. semicircumflexa dext.

A. = Arteria, V. = Vena, sin. = sinistra, dext. = dextra, R. = Ramus, prox. = proximalis, dist. = distalis

Abb. 1b: Facies atrialis eines Schweineherzens (aus SCHUMMER und HABERMEHL 1984)

a Atrium sin., b Atrium dext., c Sinus venarum cavarum, d Sinus coronarius, e Ventriculus sin., f Ventriculus dext., g Margo ventricularis sin., h Margo ventricularis dext., i Sulcus interventricularis subsinuosus, k Sulcus coronarius dext., l Sulcus coronarius sin., m Apex cordis, n Incisura apicis

1 Arcus aortae, 2 rechte, 3 linke Lungenarterie, 4,4',4'' rechte Lungenvenen, 5 eine linke Lungenvene, 6 V. cava caudalis, 7 V. cava cranialis, 8 V. azygos sin., 9 R. circumflexus der A. coronaria sin., 10 R. marginis ventricularis sin., 11 R. ventriculari sin. dist., 12 R. intermed. atrii sin., 13 R. dist. atrii sin., 14, 15 A. coronaria dext., 14 ihr R. circumflexus (= RCX), 15 ihr R. interventricularis subsinuosus, 16, 16' R. marginis ventricularis dext., 17 R. dist. Ventriculi dext., 18 R. ventriculi sin., 19 R. dist. atrii dext., 21 V. cordis media, 21' ihre Endäste, 22 ihr R. dist. ventriculi dext., 23 R. circumflexus der V. cordis magna, 24 sein R. dist. ventriculi sin., 25 sein R. marginis ventricularis sin., 26 V. marginis ventricularis dext., 27 V. semicircumflexa dext., 28 ihr R. prox. ventriculi dext.

A. = Arteria, V. = Vena, sin. = sinistra, dext. = dextra, R. = Ramus, prox. = proximalis, dist. = distalis

In ca. 70% der Fälle handelt es sich um eine sogenannte „Rechtsherzdominanz“, bei rund 15% ist hingegen die linke Kranzarterie stärker an der Blutversorgung des Herzmuskels beteiligt. Als weitere Form haben ungefähr 15% aller Menschen einen „balancierten Versorgungstyp“, bei dem der hintere Teil des Septums sowohl von Ästen der rechten als auch der linken Kranzarterie oder von einem Astgeflecht aus beiden versorgt wird [ALLWORK, 1979].

Der Hauptstamm der A. coronaria sin. teilt sich beim menschlichen Herzen schon nach wenigen Millimetern in die left anterior descending coronary artery (LAD) und die left circumflex coronary artery (LCX). Die LAD ist mit ihren Seitenästen für die Versorgung der Wand des linken Ventrikels und die proximalen Anteile des Septums verantwortlich; die LCX ist dagegen für die Versorgung des linken Vorhofes, verschiedener Teile des linken Ventrikels, des Papillarmuskels und bisweilen auch des Sinusknotens verantwortlich. Die Hinterwand des Herzens, Teile des Papillarmuskels, des Septums, der rechte Vorhof, der rechte Ventrikel, der Sinusknoten und der AV-Knoten werden von der right circumflex coronary artery (RCX) versorgt [MEYER et al., 1994]. Als die dominierende Kranzarterie wird die Arterie bezeichnet, die den absteigenden R. interventricularis posterior liefert. Bei der Mehrzahl der Menschen stellt dieses Gefäß die Verlängerung der rechten Koronararterie dar, wodurch der Begriff der „Rechtsherzdominanz“ geprägt wurde [ALLWORK et al., 1982].

Ähnlichkeiten zwischen Mensch und Schwein gibt es auch auf dem Gebiet der Herzphysiologie, z.B. betragen die Ruhewerte der Herzfrequenz des Menschen 60 bis 80/min [SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987], die Herzfrequenz des Schweines beträgt 80/min [ENGELHARDT und BREVES, 2000]. Die Versorgung des menschlichen Myokards erfolgt mit 5% des Herzzeitvolumens [BÖCKER et al., 1997], die des Schweines mit etwa 5 bis 10% des Herzzeitvolumens [SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987].

Das Schwein ist als Modell der chronischen myokardialen Ischämie besonders geeignet, weil es neben dem ganz ähnlichen Blutgefäßsystem des Menschen auch gleiche Merkmale ischämischer Veränderungen und Schäden (z.B. Herzinfarkt) in einem relativ kurzen Zeitraum entwickelt. Das Schweineherz entwickelt zudem kaum Kollateralisierung der Gefäße, was die Zuordnung der Versorgungsgebiete erleichtert [SCHAPER et al., 1967].

2.1.1 Kollateralen am Herzen des Schweines und des Menschen

Koronare Kollateralen sind Gefäße, die sowohl ihrer Größe als auch Struktur nach Arteriolen entsprechen. Sie stellen eine Verbindung der einzelnen Versorgungsgebiete der ent-

sprechenden Koronargefäße dar [SCHAPER et al., 1972]. Widersprüchliche Ansichten bestehen in der Frage, inwieweit das koronararterielle Gefäßsystem des Schweines überhaupt Kollateralen bzw. Anastomosen besitzt. BARGMANN (1977) vertritt die Meinung, dass sich zwischen den Koronararterien eine Vielzahl von Anastomosen finden. Im Gegensatz dazu seien nach SCHUMMER und HABERMEHL (1984) Anastomosen bei den Haussäugetieren generell selten.

Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass sich diese Gefäße generell nur unter ischämischen Zuständen entwickeln [SCHAPER, 1995]. Nach SCHAPER (1995) kann jedoch das Schwein auch bei langsam fortschreitendem Verschluss der Herzkranzgefäße keine epikardialen Kollateralen bilden, wie das z.B. beim Hund geschieht. Die reichliche Kollateralversorgung macht den Hund als Tiermodell für die Infarktforschung ungeeignet [ALLWORK, 1987]. Beim Schwein entstehen in dem ischämischen Gebiet lediglich Gefäße, die kaum größer als Kapillaren sind [SCHAPER, 1995]. Im Gegensatz dazu haben HARADA und seine Kollegen (1994) eine vermehte Kollateralbildung nach dem Verschluss der LAD durch einen Ameroidkonstriktor am Schweineherzen beobachtet. Nach der Dobutamin-Stress-echokardiographie (DSE) sind keine Wandbewegungsstörungen mehr aufgetreten, was für die Ausbildung eines funktionell wirksamen Kollateralkreislaufs sprechen würde.

Beim menschlichen Herz sind von Geburt an zahlreiche englumige Kollateralen mit einem Durchmesser von etwa 20 bis 350 μm angelegt [BAROLDI, 1971], die aber für einen funktionell wirksamen Kollateralkreislauf nicht ausreichend sind [STRAUER, 1991]. Ein Ausbau zum effektiven Kollateralkreislauf erfolgt erst bei länger anhaltenden oder rezidivierenden Ischämiephasen [MEYER et al., 1994] und die Kollateralen können ein Kaliber von etwa 2 mm erreichen [BAROLDI, 1971].

Diese Kollateralen sollen die Versorgung nicht mehr durchbluteter Myokardbezirke gewährleisten [ALLWORK, 1987], und somit klinische Manifestationen oder sogar pathologische Veränderungen des Herzmuskels verhindern, die sich im Verlauf anhaltender Gefäßverlegungen entwickeln würden [ANDERSON, 1971]. Somit kann man von einem wirksamen Kollateralkreislauf sprechen, wenn ein Gefäßverschluss ohne Folgen toleriert wird [STRAUER, 1991]. Die Kollateralgefäße des Myokards verlaufen im Vergleich zu denen des Schweines nicht nur auf präkapillarer Ebene, sondern auch zwischen größeren Gefäßen [ANDERSON und BECKER, 1982].

Zusammenfassend gesagt liegen Gemeinsamkeiten zwischen Mensch und Schwein in der eher schlechten Entwicklung von Kollateralen, wobei der Mensch im Unterschied zum Schwein

Kollateralen größeren Kalibers ausgebildet und somit einen stärker ausgeprägten funktionell wirksamen Kollateralkreislauf unter ischämischen Zuständen aufweist.

2.2 Die Koronare Herzkrankheit (KHK)

2.2.1 Allgemeines

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist in den hoch entwickelten Industrieländern mit 5-7% die häufigste Todesursache. Durch die Verengung der versorgenden Arterien kommt es zu einem regionalen Missverhältnis zwischen koronarem Sauerstoffangebot und myokardialen Sauerstoffbedarf [BÖTTINGER und FLEISCHER, 1994]. Dies führt zum klinischen Bild der Angina pectoris und bei länger anhaltendem Sauerstoffmangel zum Myokardinfarkt [STRAUER, 1991].

Koronarangiographische Untersuchungen sowie post mortem Studien an den Koronargefäßen betroffener Patienten zeigen, dass in über 90% der Fälle artherosklerotische Veränderungen in Form stenosierender Plaques die Ursache für einen verminderten Blutfluss in den Herzkranzgefäßen sind [BUJA und WILLERSON, 1991].

2.2.2 Ursachen, Entstehungsmechanismen und Folgen der KHK

Die Ursache für das Krankheitsbild der KHK stellen also koronarsklerotische Veränderungen dar, die aus variablen Kombinationsmöglichkeiten arterieller Intimaveränderungen bestehen können: herdförmige Anhäufungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, fibrösem Gewebe und Ablagerung von Kalziumverbindungen, begleitet von Veränderungen in der Media [MÖRL, 1989].

Bei atherosklerotisch veränderten Gefäßen ist meist eine Fissur oder Ruptur im Bereich einer bereits bestehenden Plaque der Ausgangspunkt, an dessen freiliegenden, subendothelialen Strukturen sich Thrombozyten anlagern. Dies führt bei weitergehender Organisation des entstandenen Thrombus zu einem Fortschreiten der Obstruktion bei gleichzeitigem Freisetzen vasokonstriktorischer Substanzen (Serotonin) aus den Thrombozytengranula. Durch das Verlangsamen der Blutströmung bis hin zur Stase kann dieser Prozeß schließlich in einem kompletten Gefäßverschluss münden [ROSS, 1986; IP et al., 1991; RIEDE et al., 1995].

Prognostisch von Interesse ist die Frage, ab welchem Stenosegrad der Circulus vitiosus in Gang gesetzt wird. MERINO et al. (1994) stellten in einem Versuch an Karotiden mit ca. 4

mm Durchmesser fest, dass bei einer Stenose mit 65 bis 70% Gefäßlumenverengung ein baldiger vollständiger Verschluss mit größter Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist.

Im weiteren Verlauf der KHK führt der Sauerstoffmangel des Myokards zu einer zentralen Anregung der Sympathikusaktivität, woraufhin die Herzfrequenz, die Kontraktionsgeschwindigkeit und oft auch der Blutdruck ansteigen. Damit sind die Herzarbeit und der Sauerstoffverbrauch sprunghaft erhöht. Der Sauerstoffmangel dehnt sich nun auf größere Abschnitte des linken Ventrikels aus, es kommt zu einer regionalen oder auch totalen Kontraktionsschwäche des Herzmuskels [MÖRL, 1989]. Der enddiastolische Druck im linken Ventrikel steigt über die Norm an, wodurch die extravaskuläre Widerstandskomponente zunimmt und die Koronardurchblutung weiter sinkt [WAGNER, 1985].

Eine Koronarinsuffizienz kann sich in folgender Weise klinisch manifestieren:

- als Angina pectoris
- als Herzrhythmusstörungen bis hin zum Kammerflimmern
- als Myokardinfarkt

Die **Angina pectoris** stellt ein klinisches Syndrom dar, das durch organisch bedingte, anfallsweise retrosternale und präkordiale Schmerzen charakterisiert ist [SULYMA, 1985].

Herzrhythmusstörungen sind nicht selten Begleitsymptome der KHK. Auslösender Faktor ist eine direkte ischämische Schädigung des Erregungsbildungs- und Erregungsleitungssystems. Im Extremfall wird ein Kammerflimmern provoziert und ein „plötzlicher Herztod“ kann die Folge sein. Ca. 25% der KHK-Patienten fallen dieser Form der Herzrhythmusstörung zum Opfer, ohne jemals an einer Angina pectoris gelitten zu haben („stumme KHK“) [MÖRL, 1989].

In der Humanmedizin ist der **Herzinfarkt** ein relativ häufig auftretendes Krankheitsbild, das durch eine Ischämie des betroffenen Herzmuskelareals verursacht wird [STRAUER, 1991]. Der Myokardinfarkt ist durch eine umschriebene Nekrose des Parenchyms und Mesenchyms charakterisiert [BARMEYER, 1977].

Pathogenetisch liegt dem Herzinfarkt ein Verschluss oder eine Stenose von Koronararterien bzw. deren Äste zugrunde, der wiederum einen akuten Sauerstoffmangel im Myokard zur Folge hat. Die physiologische Besonderheit der koronaren Blutversorgung und einige für das Myokard spezifische Charakteristika des Energiestoffwechsels bedingen die geringe Toleranz

des Herzmuskelgewebes gegenüber einem länger andauernden Sauerstoffdefizit. Eine rasch einsetzende Übersäuerung der Herzmuskelzellen und der Mangel an ATP, der eine Verschiebung des Elektrolytgradienten hervorruft, führt zu einem irreversiblen Zugrundegehen der Muskelzellen [DAHME und SCHRÖDER, 1990b].

In ca. 95% der Fälle ist der betroffene Myokardbereich im linken Ventrikel lokalisiert. Meist erfasst das Infarktgeschehen als „transmuraler Infarkt“ alle Wandschichten und geht stets mit einer akuten, verschließenden Thrombose einher. Letzteres muss beim „Innenschichtinfarkt“, bei dem nur die subendokardiale Schicht des Myokards betroffen ist, nicht der Fall sein.

CAESAR (1984) spricht dann von einem Infarkt, wenn die nekrotische Herzmuskelzone mindestens einen Durchmesser von 2,5 bis 3 cm aufweist. Kleinere Nekrosebezirke werden, absteigend in ihrer Größe, „Mikroinfarkt“, „Fasergruppennekrose“ oder „Einzelfasernekrose“ genannt [CAESAR, 1984; RIEDE et al., 1995].

Pathologische Anatomie

Makroskopisch ist bereits nach vier Stunden ein Herzinfarkt durch ein Abblassen der Muskulatur erkennbar. Zudem ist eine frische Herzmuskelnekrose gegenüber den umliegenden Gewebe mäßig erhaben, färbt sich nach acht bis zwölf Stunden lehmgelb und wird von einem dünnen, hämorrhagischen Randsaum umgeben. Der abgestorbene Myokardbereich sinkt nach ca. zwei bis vier Wochen ab und erscheint rötlich-grau. Nach fünf bis acht Wochen ist das grau-weiße, derbe Narbengewebe zu erkennen (siehe Tabelle 1) [BENEKE, 1974; MÜLLER, 1986; THOMAS, 1992].

Pathologische Histologie

Den meisten Autoren zufolge, darunter BENEKE (1974), lassen sich eindeutige lichtmikroskopische Befunde erst vier bis sechs Stunden nach dem Infarktgeschehen erheben. Diese sind gekennzeichnet durch den herdförmigen Verlust der Querstreifung der Muskelzellen, Kondensation des Zytoplasmas, verstärkte eosinophile Anfärbbarkeit des Zytosols, körniger Zerfall der Herzmuskelfasern, degenerative Zellkernveränderungen sowie Immigration von Granulozyten.

Innnerhalb der ersten drei Tage kommt es im Zentrum der fortschreitenden Koagulationsnekrose zum Verschwinden der Muskelzellkerne, zur Homogenisierung des Zytoplasmas aufgrund des Verlustes der Querstreifung und zu einer welligen Anordnung der Herzmuskelzellen. Im Randbereich der Nekrosezone finden sich vakuolisierte und verfettete Muskelfasern, dilatierte Kapillaren sowie granulozytäre Infiltration. Der hämorrhagische Randsaum

mit seinem Reichtum an Gefäßen und Erythrozyten markiert den Übergang zum intakten Myokard [BENEKE, 1974; MÜLLER, 1986; WHEATHER et al., 1987; THOMAS, 1992; RIEDE und DREXLER, 1995].

Schon am vierten Tag beginnt die Organisation des nekrotischen Muskelareals. Von der Peripherie wandern Makrophagen und Fibroblasten ein, letztere differenzieren sich später zu Fibrozyten und Angioblasten. Der Durchmesser des Nekroseherdes kann so innerhalb von ca. 10 Tagen um etwa 1 mm verkleinert werden. In einem Zeitraum von vier bis sechs Wochen erfolgt die vollständige Organisation eines mittelgroßen Infarktes zum Narbengewebe (sog. „Remodeling“), wohingegen bei größeren Infarkten noch nach zwei bis drei Monaten zentrale Nekroseherde nachweisbar sein können [BENEKE, 1974; RIEDE und DREXLER, 1995].

Tabelle 1: Herzinfarkt beim Menschen im zeitlichen Ablauf (modifiziert nach MÜLLER 1986 und THOMAS 1992)

	Makroskopisch	Mikroskopisch	Andere Veränderungen
1-3 Stunden		evtl. Faserödem, Hyalinisierung der Fasern, Sarkoplasma-verklumpungen, fettige Degeneration	Elektronenmikroskopische Veränderungen; verminderte Aktivität der Dehydrogenase im Infarktbereich
4-6 Stunden	Geringe Aufhellung des Myokards (nach 5 h)	Nekrose, leukozytäre Infiltration	Verminderung von Enzymen im Infarktbereich
9-48 Stunden	Infarktgebiet gelb, trocken, fest, evtl. mit hämorrhagischem Randsaum	vollausgeprägte Nekrose	Anstieg herzmuskelspezifischer Enzyme (Creatinkinase, Aspartat-Aminotransferase, α -Hydroxybutyrat-Dehydrogenase) im Serum
2.-3. Woche	Infarktgebiet rötlich-grau, eingesunken	Granulationsgewebe	
5.-8. Woche	Infarktgebiet weiß, derb, sehnenartig	Narbengewebe	

2.2.3 Vorkommen von Atherosklerose und Herzinfarkt beim Schwein

Im Tierreich spielt die **Atherosklerose** eine untergeordnete Rolle, da schwere Folgeerscheinungen des Gefäßleidens in der Regel ausbleiben [VON SANDERSLEBEN, 1989].

DAHME und SCHRÖDER (1990a) konnten atherosklerotische Veränderungen mit entsprechender atheromatöser Komponente, wie sie bei Menschen auftreten, nur bei bestimmten Spezies wie dem Schwein beobachten. FRENCH et al. (1965) fanden bei Schweinen atherosklerotische Herde in der Gefäßwand von Koronarien und der Aorta, die im histologischen

Bild große Ähnlichkeit mit entsprechenden menschlichen Gewebepräparaten aufwiesen. Derartige erkennbare, fortgeschrittene atherosklerotische Veränderungen treten beim Schwein oft im Alter zwischen vier und acht Jahren auf [MULLER et al., 1992]. Bei der meist landwirtschaftlich genutzten Tierart kommt es allerdings wegen der normalerweise geringen Lebensdauer (vorzeitige Schlachtung) nicht zur Ausprägung klinischer Symptome.

Für die Erprobung von Therapiemaßnahmen gegen die Atherosklerose, werden neben dem Schwein auch Ratten, Kaninchen, Hunde und Primaten als Tiermodelle verwendet, bei denen durch übermäßig cholesterinreiche Diät, Thyreodektomie oder genetische Manipulation atherosklerotische Veränderungen induziert werden [VESSELINOVITCH, 1988; MULLER et al., 1992].

Bei den Haussäugetieren spielen **Herzmuskelinfarkte** auf der Grundlage atherosklerotischer Herzkranzgefäßveränderungen eine untergeordnete Rolle. In einigen seltenen Fällen treten jedoch im Tierreich Myokardinfarkte nach einer Thromboembolie der Koronararterien auf, wobei meist eine Thromboendokarditis des linken Ventrikels vorliegt [DAHME, 1988]. Die Ursache für die Thromboendokarditis ist oft die Folge einer Bakteriämie, die sich meist aus lokal oder systemischen bakteriellen Infektionen entwickelt. Bei Hunden werden häufiger intramurale Mikroinfarkte im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen gefunden, regelrechte Myokardinfarkte sind selten [FOX, 1988].

2.2.4 „Hibernating“ und „stunned“ Myokard

„Hibernation“ und „Stunning“ kennzeichnen bestimmte Zustände einer koronaren Herzkrankheit [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

Ein Myokardinfarkt, verbunden mit einem irreversiblen Verlust der kontraktilen Funktion, tritt nach einer schweren Ischämie, die länger als 20 bis 40 min andauert, ein. Wenn die myokardiale Ischämie weniger schwer, aber dennoch lang anhaltend ist, kann das Myokard vital bleiben, seine kontraktile Funktion ist jedoch chronisch reduziert. Die kontraktile Funktion normalisiert sich dann nach Reperfusion. Dieser Zustand wird nach RAHIMTOOLA (1985) als „hibernating“ Myokard bezeichnet.

Durch Reperfusion kann eine Myokardischämie beseitigt werden, und eine vollständige Erholung der kontraktilen Funktion reversibel geschädigten Myokards erfolgt. Die Erholung geschieht jedoch nicht unmittelbar, sondern kann erhebliche Zeit erfordern [HEYNDRICKX et al., 1975]. KLONER et al. (1981) zeigten an einem 15 minütigen „Hunde-Ischämie-Modell“, dass über 72 Stunden nach der Reperfusion noch kontraktile Dysfunktionen im linken

Ventrikel auftraten. Dieses Phänomen einer postischämischen Dysfunktion wird als myokardiales „Stunning“ bezeichnet [BOLLI et al., 1990].

Zusammenfassend sind also „hibernating“ und „stunned“ Myokard durch einen Zustand reversibler, kontraktile Dysfunktion gekennzeichnet. Im „hibernating“ Myokard ist die Durchblutung reduziert, im „stunned“ Myokard ist die Durchblutung vollständig oder nahezu vollständig wiederhergestellt [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

2.2.4.1 Frühischämische kontraktile Dysfunktion

Die Mechanismen, die eine rasche kontraktile Dysfunktion im akut ischämischen Myokard hervorrufen, sind noch weitgehend unklar [GUTH et al., 1993]. Die Anreicherung von anorganischem Phosphat aus dem Abbau von ATP und Kreatinphosphat ist am ehesten der zentrale Mediator des frühischämischen Funktionsverlustes [MARTIN et al., 1998]. Der Anstieg des anorganischen Phosphates könnte dabei die kontraktile Funktion über eine direkte Bindung an die kontraktile Proteine, eine Entkoppelung der myofibrillären ATP-ase-Aktivität sowie eine Desensitivierung der Myofibrillen gegenüber dem freien Kalzium reduzieren [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

Der wichtigste Mechanismus des „short-term hibernating“ Myokards ist die Reduktion der Kalziumansprechbarkeit, die auf einer Reduktion der maximalen Kraftentwicklung beruht [HEUSCH et al., 1996].

Des Weiteren findet nach einer akuten Reduktion der Koronardurchblutung eine signifikante Laktatproduktion, ein Anstieg des koronarvenösen $p\text{CO}_2$ [FEDELE et al., 1988], eine Reduktion des myokardialen Kreatinphosphatgehaltes [HEUSCH et al., 1996; PANTELY et al., 1990; SCHULZ et al., 1992] sowie eine Abnahme der freien Energie der ATP-Hydrolyse [MARTIN et al., 1998] statt. Die genannten Parameter erholen sich jedoch allmählich, trotz anhaltender regionaler myokardialer Minderperfusion, verringertem Sauerstoffverbrauch und unveränderter regionaler kontraktile Dysfunktion [FEDELE et al., 1988; HEUSCH et al., 1996; MARTIN et al., 1998; PANTELY et al., 1990; SCHULZ et al., 1992]. Diese Befunde weisen darauf hin, dass die regionale kontraktile Funktion nach moderater Minderdurchblutung abnimmt und damit über die Zeit eine partielle Normalisierung Ischämie induzierter metabolischer Veränderungen gestattet [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

Die Erholung der metabolischen Parameter während andauernder Ischämie charakterisieren das „short-term hibernating“ Myokard. Im Gegensatz zum ebenfalls dysfunktionalen, aber irreversibel geschädigten Myokard kann im „short-term hibernating“ Myokard die kontraktile Funktion durch eine inotrope Stimulation mit Dobutamin [SCHULZ et al., 1992] oder

Kalzium [HEUSCH et al., 1996] gesteigert werden, obwohl die Basisfunktion des ischämischen Myokards reduziert ist und bleibt.

Die sogenannte Dobutamin-Streß-Echokardiographie (DSE) erlaubt bei Koronarpatienten die Beurteilung der Vitalität des hibernierenden Myokards, d.h. die Funktionserholung vorherzusagen. Die Steigerung der kontraktile Funktion während inotroper Stimulation erfolgt dabei auf Kosten der metabolischen Erholung. Die Abnahme des myokardialen Glykogens und die erneute Zunahme der Laktatproduktion, die sich zuvor teilweise normalisiert hatte, legen eine anaerobe Energiebereitstellung während der inotropen Stimulation nahe. Der erneute Abfall des Kreatinphosphats bei Steigerung der regionalen myokardialen Funktion weist darauf hin, dass dieses Energiereservoir rascher genutzt als wieder aufgefüllt wird. Die inotrope Stimulation kann also offensichtlich wiederum ein Ungleichgewicht zwischen Angebot und Bedarf auslösen, das zuvor durch Ischämie induzierte Abnahme der regionalen kontraktile Funktion zumindest teilweise korrigiert worden war [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

Ein sehr empfindlicher Prozess liegt in der Frühphase der Ischämie vor. Wird innerhalb der ersten Minuten einer Ischämie, die in ihrer Ausprägung (subendokardiale Durchblutung von 0,17 ml/min/g bzw. transmurale Durchblutung von 0,25 ml/min/g) myokardiales „Hibernating“ erlaubt, die Durchblutung weiter reduziert oder der Energiebedarf durch dauernde inotrope Stimulation anhaltend gesteigert, so wird die Entstehung der myokardialen „Hibernation“ verhindert, und das Myokard infarziert [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

2.2.4.2 Länger andauerndes „hibernating“ Myokard

Länger andauernde „Hibernation“ geht mit erheblichen morphologischen Veränderungen einher. In Biopsien aus dem Myokard von Patienten, die nach einer Bypass-Operation reversible Dysfunktionen aufwiesen, wurden in den Myozyten eine Verminderung des kontraktile Apparates (Myofilamente) mit darauffolgender *Anhäufung von Glykogen* v.a. perinukleär und in der Zellperipherie, ein Verlust des sarkoplasmatischen Retikulums und eine *geringgradige Zunahme des kollagenen Bindegewebes* manifest [FLAMENG et al., 1981; BORGERS und AUSMA, 1995]. ELSÄSSER et al. (1998) fassen die Fibrose als Folge eines Verlustes der Herzmuskelzellen im chronischen minderperfundierten Myokard auf. Hier muss bedacht werden, dass es wahrscheinlich kein einheitliches morphologisches Bild des hibernierenden Myokards gibt, sondern – je nach Ausmaß der Minderdurchblutung – alle Übergänge zwischen fast normaler Morphologie bis zum Fast-Infarkt möglich sind [HORT und ARNOLD, 2000]. Elektronenmikroskopisch wurde eine Formveränderung und Verkleinerung der Mitochondrien beobachtet.

Die typischen zellulären Veränderungen der Kardiomyozyten im länger andauerndem „hibernating“ Myokard sind nicht von degenerativer Natur, sondern es handelt sich hier möglicherweise um einen Prozess der Dedifferenzierung [BORGERS et al., 1993; AUSMA et al., 1998; WIJNS et al., 1998]. MARI und STRAUSS (2002) sind der Meinung, dass die zelluläre Dedifferenzierung (fetalen Phenotyp) im „stunned“ Myokard (reversible, kontraktile Dysfunktion, bei der die Durchblutung (nahezu) vollständig wiederhergestellt ist) beobachtet wird. Dieses Krankheitsphänomen stellt im menschlichen Herzen den dominierenden Prozess dar. Hingegen wird im Tiermodell eine zelluläre Degeneration mit einem höheren Fibrosegrad und einer längeren Rekonvaleszenzzeit beobachtet. Diese unterschiedlichen histologischen Muster sprechen für eine zelluläre Entwicklung, die von Dedifferenzierung bis hin zur Degeneration reicht und schließlich zur Nekrose und zum Untergang des Gewebes führt, wenn eine Revaskularisation ausbleibt [MARI und STRAUSS, 2002].

Kardiomyozyten, die einer chronischen Ischämie ausgesetzt sind, exprimieren „smooth muscle actin“. Die Expressierung dieses Zellproteins entspricht der der embryonalen Kardiomyozyten [BORGERS und AUSMA, 1995].

Embryonale Zellen sind durch eine höhere Ischämie-Toleranz charakterisiert. Das embryonale oder neugeborene Herz weist im Gegensatz zum erwachsenen Herz eine bessere funktionelle Erholung nach einer Ischämie auf. In der Studie von KAGIYA et al. (1991) wurde beobachtet, dass neonatale Myozyten aus dem Herzen von Ratten in der Kultur eine Dysfunktion bei hypoxischen Zuständen aufweisen, die sich nach Reoxygenierung wieder normalisiert.

GRICE et al. (1987) konnten mit ihrer Studie nachweisen, dass sich embryonales Myokard besser an geringere partielle Sauerstoffgehalte adaptieren kann und Glukose als Energiequelle dient, die hauptsächlich von Glykogenreserven gewonnen wird.

Embryonale Kardiomyozyten tolerieren hypoxische Zustände besser, weil die Zellen eine höhere Glykolyse-Aktivität und einen größeren Glykogen-Speicher bei geringer kontraktile Funktion aufweisen. In mehreren Studien konnten im embryonalen Myokard höhere Adenosintriphosphat- (ATP) und Adenosinmonophosphat- (AMP) Werte nach einer kurzen (15 bis 60 min) Ischämieperiode gemessen werden [ABT-ELFATTAH et al., 1986; GRICE et al., 1987; MASK et al., 1989].

Histologische Veränderungen einer akuten Ischämie, wie Mitochondrienzerstörung, Glykogenspeicher-Erschöpfung (Depletion), zelluläres Ödem, Pyknose und Nekrose, konnten in der Studie von AUSMA et al. (1998) nicht beobachtet werden. Es sind 21 Biopsien des linken Ventrikels von Patienten mit chronisch „hibernating“ Myokard (CHM) histologisch untersucht worden.

2.2.4.3 Diagnose des „hibernating“ Myokards

Ein Charakteristikum des „hibernating“ Myokards ist das sog. „perfusion-contraction-matching“ [ROSS, 1991]. Der Nachweis eines „perfusion-contraction-matching“ (reduzierte kontraktile Funktion bei reduzierter Durchblutung) kann durch die Positronen-Emissions-Tomographie (13-N, 15-O) erzielt werden. Eine gleichzeitige Erfassung der regionalen myokardialen Funktion, z.B. durch Ventrikulographie oder Echokardiographie, ist bei dieser Technik erforderlich.

Des Weiteren wird mit der Positronen-Emissions-Tomographie (18-FDG) eine erhöhte glykolytische Aktivität bei reduzierter Durchblutung („perfusion-metabolism-mismatch“) nachgewiesen [HEUSCH und SCHULZ, 1998].

2.2.4.4 Therapie von Koronarverengungen durch perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA)

Das Prinzip der PTCA besteht in der Aufdehnung einer Koronargefäßstenose mit Hilfe eines ballondilatierbaren Stents. Die Stents werden über ein Ballonkathetersystem in die Lumenengstelle eingebracht und dort durch Aufpumpen des Ballons entfaltet. Die von der Ballondehnung ausgehenden Druckkräfte bewirken eine plastische Verformung des Stents, die zu einer Umfangs- und Lumenerweiterung der röhrenförmigen Gefäßstütze und des umliegenden Gefäßsegments führt. Nach der Expansion wird der Druck im dilatierten Ballon abgelassen. Der nicht-kollabierte Stent verbleibt im aufgedehnten Zustand am Einsatzort und der Ballonkatheter wird zurückgezogen. Nach den ersten erfolgreichen Dilatationen von Koronararterien auf diese Weise glaubte man, die Gefäßerweiterung allein durch eine Kompression des Plaquematerials zu erreichen [GRÜNTZIG et al., 1979]. Die histologische Untersuchung von Koronararterien obduzierter Patienten zeigte jedoch Einrisse im atherosklerotischen Beut, die nicht selten bis in die Media hineinreichten. Darüber hinaus wurden häufig zirkuläre Einrisse vor allem zwischen atherosklerotischen Plaques und normalen Wandbezirken beobachtet, die zu relativ ausgedehnten subintimalen oder submedialen Dissektionen führen können [BLOCK et al., 1981; GRAVANIS und ROUBIN, 1989]. Heute weiß man, dass der Einriß im Bereich der Stenosestelle einerseits zum normalen Wirkungsmechanismus der erfolgreichen PTCA gehört, andererseits aber die Schwelle zur Komplikation (akuter bis subakuter Gefäßverschluss, chronischer Langzeitverschluss) darstellt [STRAUER, 1991].

Nach BOEKSTEGERS (1995) werden Stents heutzutage vorrangig in der Therapie von Koronarstenosen eingesetzt. Als Hauptindikationen für die koronare Stentimplantation gelten

akute Herzkranzgefäßverschlüsse, rezidivierende Stenosen nach vorangegangener PTCA sowie mangelhafter Akuterfolg einer PTCA [GRANT, 1990].

2.3 Nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden

Nichtinvasive Diagnostik beschreibt die Bioverteilung radioaktiv markierter Tracer oder Pharmaka durch Messung ihrer gewebsdurchdringenden γ -Strahlung von außen. Konkret bedeutet dies, dass z.B. die Glukoseaufnahme mit dem Glukose-Analogon 18-F-Fluorodesoxyglukose, der Fettsäurestoffwechsel mit 123-I-markierten Fettsäuren oder die Mikrozirkulation z.B. mit 201-Tl-Chlorid oder mit 99m-Tc-Methoxy-isobutylisonitril regional differenziert in verschiedenen Myokardabschnitten durch nichtinvasive Messung von außen erfasst werden kann [SCHICHA und VOTH, 1994].

2.3.1 Allgemeines

In den letzten 10 Jahren sind zahlreiche invasive und nicht-invasive Technologien zur Charakterisierung der koronaren Herzkrankheit entwickelt worden. Eine koronare Herzkrankheit kann mit hoher Sensitivität und Spezifität durch nicht-invasive bildgebende Verfahren entdeckt werden. Die diagnostische Koronarangiographie ist ein etabliertes invasives Verfahren zur Charakterisierung von Ausmaß und Schweregrad der koronaren Herzkrankheit. Hierbei werden über einen Herzkatheter, der über die freigelegte A. brachialis (Methode nach SONES) oder über die A. femoralis (Methode nach JUDKINS) eingeführt wird, selektiv die Kranzarterien des rechten und linken Ventrikels mit Röntgenkontrastmittel dargestellt. Ein exaktes Abbild des Gefäßlumens kann so unter Durchleuchtung auf einem Bildschirm sichtbar gemacht werden [MÖRL, 1989]. Somit ist eine genaue Bestimmung der Lage, Anzahl und Größe von Koronarstenosen möglich. Distale Gefäßabschnitte sowie ein eventuell entstandener Kollateralkreislauf können angiographisch beurteilt werden.

Analysen der regionalen und globalen Funktion, Perfusion und koronaren Anatomie haben wichtige diagnostische und prognostische Aussagen bei akuter und chronischer koronarer Herzkrankheit ergeben. Dennoch bestehen diagnostische Probleme bei der Beurteilung der Vitalität des Gewebes bei Patienten mit fortgeschrittener koronarer Herzkrankheit [WOLPERS und SCHWAIGER, 1990].

Da zahlreiche groß angelegte klinische Studien belegt haben, dass Patienten mit schlechter linksventrikulärer Funktion am meisten von einer Revaskularisation profitieren, hat die diag-

nostische Unterscheidung zwischen infarziertem und ischämisch geschädigtem, aber noch vitalem Myokard, klinisch große Bedeutung [MARI und STRAUSS, 2002].

Die Thallium-201-Szintigraphie unter Belastungsbedingungen wird weithin zur Unterscheidung von ischämischen, aber noch vitalen Myokards von Narbengewebe verwandt. Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass diese Technik das Ausmaß der Narbenbildung überschätzt und daher bei der Auswahl von Patienten für eine Revaskularisation von begrenztem Wert ist [BRUNKEN et al., 1987; ELSÄSSER et al., 1998].

Da die Vitalität eines Gewebes auf seiner verbleibenden metabolischen Aktivität zur Energieproduktion begründet ist, wurde der Gebrauch von Radio-Pharmaka, die den Herzstoffwechsel charakterisieren können, für die Definition von vitalem Gewebe vorgeschlagen. Mit einem solchen Ansatz, in Kombination mit Positronen-Emissions-Tomographie (PET), [SCHELBERT und BUXTON, 1988] wurde die spezifische Diagnostik von vitalem Myokard möglich.

2.3.2 Prinzipien der Positronen-Emissions-Tomographie (PET)

Die bildgebende Analyse der myokardialen Anreicherung von Markern durch die PET wird durch die spezifischen Eigenschaften des Positronenzerfalls begründet. Das energiereiche Positron durchdringt das Gewebe und vereint sich mit einem Elektron. Beim Zerfall (Annihilation) der 2 Partikel umfassenden, atomähnlichen Struktur entsteht ein Photonenpaar in einem Winkel von etwa 180° und mit einer Energie von 511 KeV, das durch kolinear angeordnete Detektoren, die den ganzen Körper umgeben, erfasst wird. (Abb. 2). Diese einzigartige Charakteristik der Positronenannihilation wird zur Bildgebung ausgenutzt [HOFFMAN und PHELPS, 1986].

Das Grundprinzip der kardialen PET ist die Markierung physiologisch aktiver Substrate mit Positronen emittierenden Radionukliden und die Erfassung von Querschnittsbildern der Radionuklidverteilung im Herzen nach Injektion der Marker [WOLPERS und SCHWAIGER, 1990].

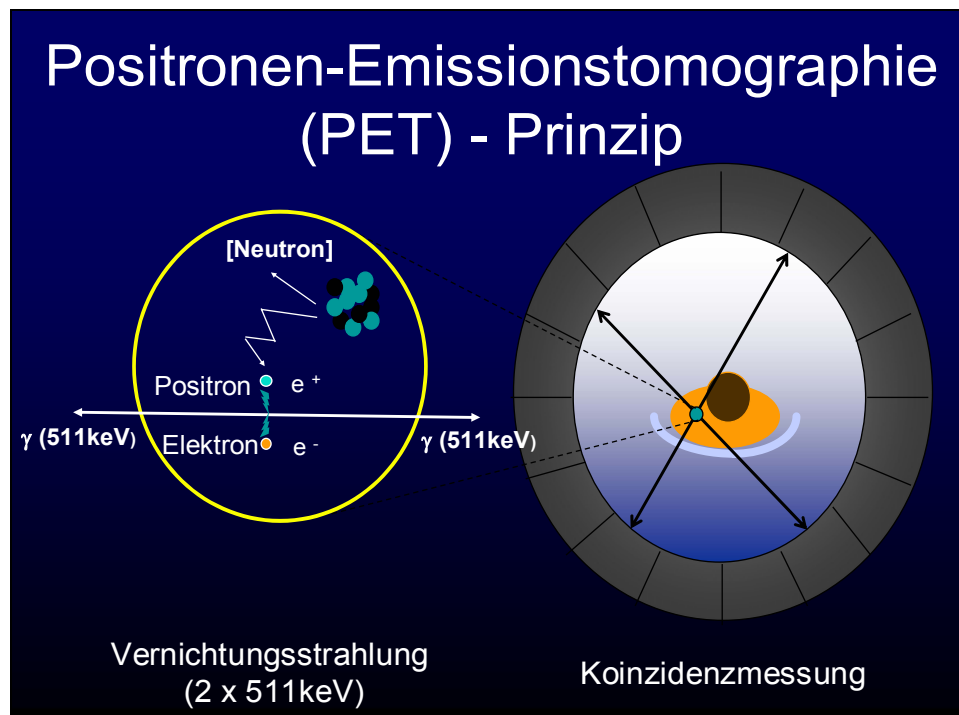


Abb. 2: PET-Prinzip (mit freundlicher Genehmigung von Dr. F. Bengel, Klinik für Nuklearmedizin des Klinikums rechts der Isar in München)

2.3.2.1 Analyse der myokardialen Durchblutung

Die myokardiale Durchblutung steht in enger Beziehung zum myokardialen Sauerstoffverbrauch [KHOURI et al., 1965]. Daher gestattet die Analyse und Quantifizierung der regionalen myokardialen Durchblutung eine indirekte Schätzungen des myokardialen Sauerstoffverbrauchs. Da sowohl der Antransport als auch der Verbrauch von Substraten den metabolischen Zustand definieren, gestattet die kombinierte Charakterisierung der regionalen myokardialen Durchblutung und der metabolischen Aktivität die spezifische Definition von pathophysiologischen Veränderungen während myokardialer Ischämie. Im Rahmen experimenteller Studien steht eine Reihe von Techniken zur Messung der Durchblutung zur Verfügung (wie z.B. Mikrosphären). Obwohl diese Techniken detaillierte Messungen gestatten, sind sie invasiv und können nicht ohne Weiteres auf die klinische Situation übertragen werden. Im Vergleich dazu sind nicht-invasive Methoden zur Messung der Koronardurchblutung beim Menschen ungenau und gestatten in erster Linie nur eine qualitative Analyse. Die Prinzipien der PET gestatten jedoch eine quantitative, nicht-invasive Messung der regionalen myokardialen Durchblutung, wie in neueren Untersuchungen belegt wurde [MARI und STRAUSS, 2002; LÜSS et al., 2002]. Die am häufigsten verwandten Marker zur Messung der myokardialen Durchblutung sind Rubidium-82 und N-13-Ammoniak, die eine hohe unmittelbare Extraktionsrate durch das Myokard aufweisen (etwa 80% für N-13-Ammoniak und 60% für Rubidium). Rubidium-82 ist ein Kalium-Analog, das mit dem Kalium-Ion

zumindest partiell den Natrium-Kalium-Transportmechanismus teilt, während N-13-Ammoniak hauptsächlich über die Glutamin-Synthetasereaktion und ein geringerer Teil über die Ketoglutarat-Glutaminsäure-Reaktion zu N-13-Glutamin (N-13-Glut) umgewandelt wird (Abb. 3) [SCHELBERT, 1981]

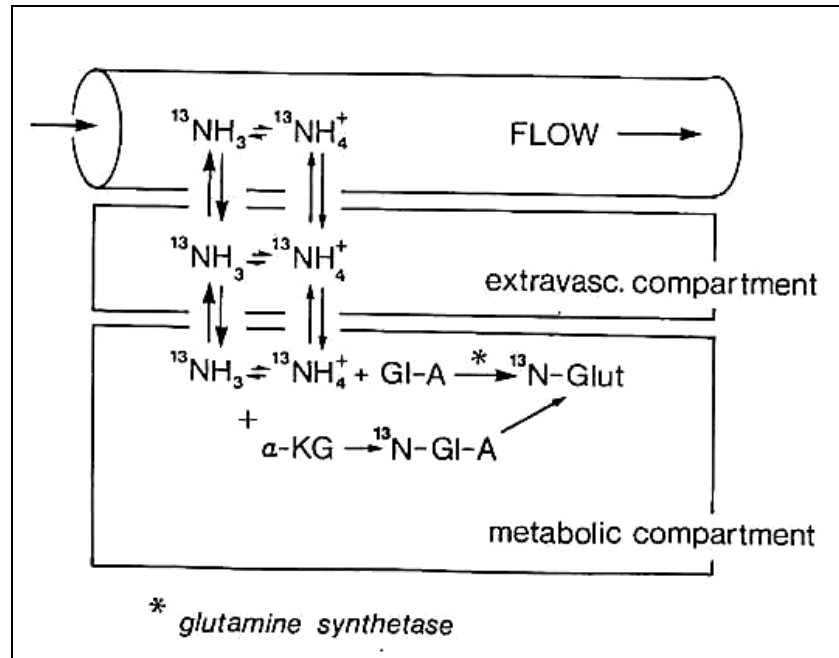


Abb. 3: Drei- Kompartiment- Modell der Verstoffwechselung von N-13-Ammoniak (nach SCHELBERT 1981)

GI-A = Glutaminsäure, Glut = Glutamin, α - KG = α - Ketoglutarat, Flow = intravasal, extravasc. compartment= extravaskuläres Kompartiment, metabolic compartment = intrazelluläres Kompartiment

2.3.2.2 Analyse des Herzstoffwechsels

Regionale Unterschiede in der myokardialen Durchblutung unter Ruhebedingungen oder Belastung zeigen nicht notwendigerweise eine myokardiale Ischämie an. In klinischen Situationen, wie etwa während der Reperfusionsphase, kann eine vorübergehende Dissoziation zwischen regionaler Durchblutung und den metabolischen Anforderungen bestehen. Da Ischämie eine pathophysiologische Situation auf zellulärem Niveau darstellt, mag die Analyse der Zellfunktion durch metabolische Parameter eine myokardiale Ischämie spezifischer als die Analyse der Durchblutungsparameter anzeigen. Die invasive Charakterisierung des Herzstoffwechsels durch Bestimmung arteriovenöser Blutgasproben ist auf globale Messungen beschränkt. Die koronare Herzkrankheit betrifft jedoch regionale Perfusionsstörungen. Daher ist eine regionale Definition der Gewebefunktion notwendig, um Ausmaß und Schweregrad der Erkrankung zu analysieren. Die dreidimensionale Datenerfassung durch die PET gestattet die Analyse regionaler Veränderungen des myokardialen Substratstoffwechsels [WOLPERS und SCHWAIGER, 1990].

Fluor-18-2-markierte Deoxyglukose (^{18}F FDG) wird zur nicht-invasiven Analyse der Glukoseaufnahme verwandt. Es handelt sich hier um ein radiomarkiertes Substratanalog, das wie Glukose von den Zellen aufgenommen und phosphoryliert wird [GROPLER, 1994].

Diese Technik wurde zuerst von SOKOLOFF et al. (1977) zur autographischen, bildgebenden Analyse des Hirnstoffwechsels entwickelt und in der Folge zur Messung des Glukosetransports im Herzen und in anderen Organen verwandt [PHELPS et al., 1978].

FDG markiert die beiden initialen metabolischen Schritte der Glukoseaufnahme und Phosphorylierung durch Hexokinase. Das phosphorylierte Produkt wird dann jedoch nicht weiter durch Glykolyse, Glykogen-Synthese oder den Pentose-Phosphat-Zyklus verstoffwechselt. Da die Dephosphorylierung von FDG-6-Phosphat im Herzen langsam ist, bleibt FDG-6-Phosphat im Wesentlichen im Myokard gespeichert und akkumuliert proportional zum Glukosetransport (Abb. 4).

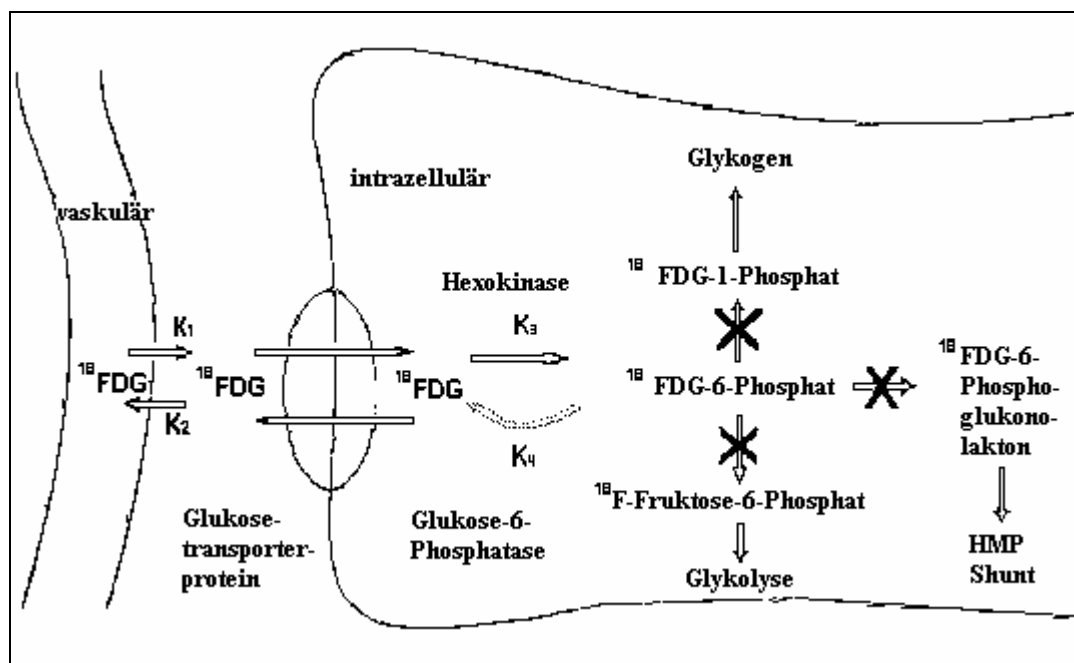


Abb. 4: Myokardialer ^{18}F FDG- Stoffwechsel (nach PHELPS et al., 1978)

Im Vordergrund der Myokard-PET mit FDG steht der Vitalitätsnachweis. Diese Methode gilt momentan als „golden standard“ zum Nachweis von Narbe bzw. Restvitalität [SCHICHA und VOTH, 2000].

2.3.3 Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Magnetresonanztomographie (MRT) wird in der diagnostischen Kardiologie zur Beurteilung der Wandbewegung (linksventrikuläre Pumpfunktion), der Perfusion und als Vitalitätsnachweis eingesetzt [BAER et al., 1992; FEDELE et al., 1994]. Im Gegensatz zu den beiden erst genannten Untersuchungsparametern gehört gegenwärtig die quantitative Perfusionsmessung noch nicht zur klinischen Routineuntersuchung. Von Vorteil bei dieser Technik ist nicht nur die geringe Belastung des Patienten und des Untersuchers, sondern hauptsächlich die dreidimensionale Abbildung des Koronarsystems [VAN ROSSUM, 1997].

2.3.4 Metabolische Veränderungen im ischämischen Myokard

Die myokardialen Energiespeicher reichen für etwa 10 Herzschläge nach experimentellem Koronararterienverschluss, wobei die myokardiale kontraktile Funktion rasch abnimmt. Die begleitenden metabolischen Veränderungen im Myokard umfassen eine Störung der Fettsäureoxidation, einen Glykogenabbau und eine gesteigerte Glykolyse. Zyklisches Adenosin-Monophosphat akkumuliert früh im ischämischen Gewebe, und der Mangel an Sauerstoff hemmt den oxidativen Fettsäurestoffwechsel. Diese Hemmung führt in der Folge sowohl zur Aktivierung des Glykogenabbaus als auch zu einer gesteigerten Glukoseaufnahme und Glykolyse [WOLPERS und SCHWAIGER, 1990].

Die Beziehung zwischen Restdurchblutung, anaeroben und aeroben Stoffwechsel und Vitalität der Zellen wurde mit verschiedenen metabolischen Markern im Tierversuch untersucht. Experimente mit FDG haben eine eindrucksvolle Abhängigkeit der FDG-Akkumulation von der Restdurchblutung im Zentrum des ischämischen Gewebes und in der Übergangszone zwischen normalem und ischämischem Gewebe während eines akuten Verschlusses des Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie beim Hund ergeben [KALFF et al., 1989; RUSSELL et al., 1989]. Während der Glukosestoffwechsel und die Durchblutung in normalem Myokard korrelieren, ist die FDG-Aufnahme im Verhältnis zur Durchblutung in den ischämischen Zonen überproportional gesteigert. Diese Befunde belegen eine beschleunigte Glykolyse während milder und mäßiger Ischämie. Die FDG-Aufnahme war jedoch in den Regionen mit schwerer Ischämie, d.h. einer Restdurchblutung unterhalb von 20% des Ausgangswertes, stark vermindert. Diese Daten weisen auf einen Schwellenwert der Durchblutung für die Aufrechterhaltung der Glykolyse hin. Die empfindliche Kopplung zwischen ischämischer Durchblutung und aufrechterhaltenem Glukosestoffwechsel mag das Auswaschen von Laktat und anderen schädlichen Metaboliten, die die Glykolyse behindern, wiedergeben. Auf der anderen Seite mag die anaerobe Produktion energiereicher Phosphate

bei reduziertem Angebot von exogener Glukose zu niedrig sein, um den Energiebedarf zu decken, der für das Überleben der Zelle notwendig ist. Der Befund, dass die FDG-Aufnahme und damit die restliche metabolische Aktivität jenseits einer kritischen Durchblutungsschwelle rasch abfällt, macht deutlich, dass geringfügige Veränderungen der Durchblutung von äußerster Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Gewebektivität sein können [WOLPERS und SCHWAIGER, 1990].

In einem tierexperimentellen Modell des myokardialen „stunning“ erwies sich das Ausmaß der restlichen Kollateraldurchblutung im ischämischen Territorium als die entscheidende Determinante für die funktionelle Erholung während der Reperfusion [BOLLI et al., 1988].

Ausgeprägte metabolische Störungen, die durch die PET entdeckt wurden, konnten nach 3 h Ischämie in einem chronischen Modell am Hund aufgezeigt werden [SCHWAIGER et al., 1985]. Eine verzögerte funktionelle Erholung ging mit anhaltenden Veränderungen der C-11-Palmitat-Kinetik über einen Zeitraum von bis zu einer Woche einher. C-11-Palmitat wurde in zahlreichen experimentellen und klinischen Studien zur nicht-invasiven Charakterisierung des myokardialen Fettsäurestoffwechsels eingesetzt [SOBEL et al., 1977; KLEIN et al., 1979; GOLDSTEIN et al., 1980; SCHELBERT et al., 1982; SCHELBERT et al., 1983; SOBEL et al., 1984; SCHWAIGER et al., 1985]. Unter physiologischen Bedingungen stellt Palmitat etwa 25 bis 30% der zirkulierenden Fettsäuren dar, und seine Oxidation ist für etwa 50% der myokardialen Energieproduktion verantwortlich [ROTHLIN und BING, 1961; BERGMANN et al., 1985]. Die anhaltenden Veränderungen der C-11-Palmitat-Kinetik im chronischen Hundemodell sprechen für eine Reduktion der Fettsäureoxidation. Diese Reduktion korreliert mit einer regionalen Steigerung der FDG-Aufnahme und legt damit eine Verlagerung des Substratstoffwechsels im reperfundierten Myokard nahe.

Vergleichende histochemische Untersuchungen zeigen, dass die FDG-Aufnahme nur im reversibel geschädigten, nicht aber im nekrotischen Myokardgewebe gesteigert ist [SOCHOR et al., 1987]. Da die FDG-Aufnahme nicht zwischen oxidativer oder nicht-oxidativer Glukoseverwertung unterscheidet, wurden zusätzlich in dem selben Modell Untersuchungen mit C-14-markierter Glukose durchgeführt. Diese biochemische Untersuchung ergab eine anhaltende nicht-oxidative Glukoseverwertung nach 24 h Reperfusion, die sich in einer beträchtlichen C-14-Laktatproduktion niederschlug [SCHWAIGER et al., 1989]. Die regionale Steigerung der Glukoseverwertung führte jedoch auch zu einer gesteigerten C-14-Kohlendioxidproduktion und zeigt damit, dass auch der oxidative Glukosestoffwechsel im reperfundierten Myokard gesteigert ist. Diese Daten legen die Koexistenz verschiedener Grade einer zellulären Schädigung in einem reperfundierten Territorium nahe. Eine anhaltende anaerobe

Glykolyse kann dann in den am stärksten geschädigten ischämischen Zellen auftreten, während eine vorzugsweise oxidative Glukoseverwertung einen mittelgradigen Schädigungswert wiedergibt, bei dem die Fettsäureoxidation beeinträchtigt ist.

2.3.5 Glukosetransporter (GLUT)

Der Herzmuskel hat die Möglichkeit, abhängig von der Belastung, aus verschiedenen Substraten „Energie“ zu gewinnen [DEPRE et al., 1998; DEPRE et al., 1999]. In der „Ruhephase“ werden von den Myozyten bevorzugt Fettsäuren verstoffwechselt, jedoch gewinnt die Glukose als Energiequelle bei Ischämie, Insulin- oder Katecholaminstimulation oder bei vermehrter Herzleistung an Bedeutung.

In verschiedenen Studien beobachtete man bei chronischer kardialer Überbelastung und Hypertrophie des Herzens eine Kompensation der Minderdurchblutung durch einen erhöhten Glukosestoffwechsel [FRIEHS et al., 1999; LIAO et al., 2002].

Durch spezifische Glukosetransporter (GLUT) gelangt Glukose in die Kardiomyozyten [MUECKLER, 1990; MANCHESTER et al., 1994]. Der im Herz dominierende GLUT 4 ist hauptsächlich in intrazellulären Vesikeln gespeichert und transloziert bei Insulin- oder Katecholaminstimulation, Ischämie und Hypoxie zur Plasmamembran [SLOT et al., 1991; SUN et al., 1994; BROSIUS et al., 1997; FISCHER et al., 1997]. Etwa 50% des GLUT 1 ist im Herzen auf der Plasmamembran lokalisiert und für den basalen Glukosetransport verantwortlich. Aber auch bei einer Insulinausschüttung oder einer chronischen Ischämie wird GLUT 1 aus den intrazellulären Speichern zum Sarkolemm geschleust [FISCHER et al., 1997; YOUNG et al., 1997; EGERT et al., 1999]. In einer Studie von BROSIUS et al. (1997) konnte eine erhöhte GLUT 1-mRNA-Expression sowohl in hibernierenden Myokardarealen von Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit (KHK), als auch in einer Zellkultur mit chronisch hypoxischen, neonatalen Kardiomyozyten von Ratten beobachtet werden. Demzufolge werden bei einer akuten myokardialen Ischämie hauptsächlich GLUT 4- Moleküle aus intrazellulären Kompartimenten auf die Plasmamembran verlagert, während eine länger andauernde Ischämie eine erhöhte GLUT 1-mRNA-Expression induziert.

Die Ergebnisse einer Studie von SIMOES et al. (2003) bestätigen diese Erkenntnisse weitgehend. Mäuse ohne GLUT 4-Gen zeigten erst nach ca. 60 Minuten eine erhöhte FDG-Aufnahme nach Insulininjektion, hingegen war bei den Kontrolltieren bereits kurz nach der Insulininjektion eine 3,5-fache Erhöhung des Glukoseanaloges FDG im PET zu messen. Hier wird einerseits deutlich, dass GLUT 4 der wichtigste insulininduzierte Transporter ist, und

dass andererseits GLUT 4 anscheinend zu einem gewissen Teil durch GLUT 1 kompensiert werden kann.

Es wird angenommen, dass die Glykolyse eine wichtige Rolle als „Schutzmechanismus“ während einer Ischämie oder im Herzinfarktgeschehen spielt [BROSIOUS et al., 1997; APSTEIN, 1998; KUDEJ et al., 2002] und letztendlich dem Zellenuntergang entgegen wirken kann. Diese Erkenntnisse unterstreichen die Notwendigkeit nach weiteren Forschungen auf dem Gebiet des kardialen Glukosestoffwechsels und seiner Mechanismen, um die Entwicklung von neuen Therapiestrategien voranzutreiben [FARTH-ORDOUBADI und BEATT, 1997; TAEGETMAEYER, 2002].

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Zielsetzung

Die vorliegende Arbeit ist Teil eines Großprojektes, in dem ein besseres Verständnis der pathophysiologischen Stoffwechselvorgänge bei koronarer ischämischer Herzerkrankung erlangt werden soll, speziell auf dem Gebiet des Glukosestoffwechsels.

Die Arbeit beinhaltet die makroskopischen und histologischen post mortem- Untersuchungen, die eine wesentliche Ergänzungsmethode zur Diagnose des hibernierenden Myokards darstellen. Die Expression des α -SMA der Myofibroblasten sowie der hochspezifische Marker (CD3-Antikörper) von T-Zellen werden immunhistologisch nachgewiesen. Des Weiteren werden der Fibrosegrad des Myokards mit Hilfe der Elastica van Gieson-Färbung und die Glykogeneinschlüsse der Zelle (PAS-Färbung) untersucht.

Die Stent-Beschaffenheit und der Lumenquerschnitt sowie die exakte Platzierung (Modell) des Stents in die LAD beim Schwein wurde im Rahmen einer Studie von VON DEGENFELD et al. (2002) entwickelt und durchgeführt. Es wurden bereits In-vivo-Untersuchungen beim Schwein durchgeführt.

In zahlreichen klinischen wie experimentellen Untersuchungen mittels Positronen-Emissions-Tomographie (PET) konnte eine erhöhte Aufnahme des Glukoseanaloges Fluor-18-Deoxyglucose (^{18}FDG) in ischämischen Herzregionen festgestellt werden (KALFF et al., 1992). In der eigenen Studie werden die PET und das MRT zum Vitalitätsnachweis des Myokards im Bereich der LAD, und in Kontrollregionen, herangezogen. Die Auswertungen dieser Messung werden im Rahmen des Großprojektes von SIMOES durchgeführt.

Die gewonnenen Erkenntnisse sollen zu einer individuell verbesserten Diagnosemöglichkeit von Veränderungen im Myokard des Patienten führen. Darüber hinaus könnte aufgrund der neuen Erkenntnisse eine Therapie der Erkrankung möglicherweise individueller gestaltet werden.

Eine Arbeit mit molekularbiologischen Schwerpunkten wird im Rahmen dieses Großprojektes von PRAUSS (in Vorb.) angefertigt.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8 des Tierschutzgesetzes vom 27.04.1993 durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

3.2 Material und Methoden

3.2.1 Versuchstiere und deren Haltung

Die Untersuchungen werden an 16 klinisch gesunden, weiblichen Schweinen der Deutschen Landrasse Hybrid mit einem Durchschnittsalter von 14 Wochen und einem durchschnittlichen Körpergewicht von 35 kg (Schwankungsbreite: 32-45 kg) durchgeführt.

Die Tiere stammen aus einem staatlich anerkannten Zuchtbetrieb.

Sie werden drei Tage vor Versuchsbeginn aus dem Zuchtbetrieb in den Tierbereich des Institutes verbracht. Die Haltung erfolgt in Einzelboxen in einer Größe von ca. 3 qm. Die Boxen sind so konzipiert, dass die Tiere Sicht- und Geruchskontakt zu Artgenossen haben. Das Stallklima wird durch Zwangsbelüftung geregelt. Die Raumtemperatur beträgt 18 bis 21 °C, die relative Luftfeuchtigkeit liegt bei 50 bis 70 %. Beleuchtet werden die Boxen mit maximal 500 Lux im geregelten Tag-Nacht-Rhythmus. Die Fütterung erfolgt mit speziellem Schweinefutter ad libitum in pelletierter Form, Wasser ist jederzeit verfügbar.

24 Stunden vor der Operation erhalten die Tiere kein Futter mehr, Wasser kann weiterhin ad libitum aufgenommen werden.

Während der gesamten Versuchsdauer verbleiben die Tiere in den Stallungen des Institutes.

Eine tierärztliche Überwachung der Schweine erfolgt täglich.

3.2.2 Zeitplan (siehe auch Flussdiagramm Abb. 5, Seite 29)

Insgesamt werden 16 Tiere für den Versuch eingesetzt. Vorversuche sind in diesem Fall nicht notwendig, da der Operateur selbst im humanmedizinischen Bereich routinemäßig intrakoronare Stentimplantationen durchführt und Erfahrung bezüglich optimaler Implantationstechnik hat. Dieser Umstand trägt außerdem zur Minimierung der für eine statistische Auswertung notwendigen Tierzahl bei, da nur eine vergleichsweise geringe Anzahl von technischen Zwischenfällen zu erwarten ist.

Die Untersuchungen gliedern sich in 2 Gruppen:

Gruppe 1: Ischämiemodell zum Zeitpunkt 1 Woche nach Versuchsbeginn

Gruppe 2: Länger andauerndes Ischämiemodell zum Zeitpunkt des Versuchendes (nach 4 Wochen)

Um chronisch ischämische Regionen im Myokard zu generieren, wird ein vorpräparierter Stent mit initialem Stenosegrad von 75% in den Ast der linken Koronararterie im Ramus interventricularis paraconalis (im Folgenden als LAD bezeichnet) implantiert.

Es wird darauf geachtet, den Stent in relativ gestreckt verlaufenden Gefäßabschnitten zu platzieren, um eine komplikationslose Implantation zu gewährleisten und möglichst gleichartige rheologische Bedingungen zu erhalten.

Eine Woche nach der Stentimplantation werden die Störungen der Wandbewegung echokardiographisch kontrolliert, die Tiere der Gruppe 2 werden zu diesem Zeitpunkt im MRI untersucht. Zur Stentimplantation über einen Herzkatheter wird vor und nach der Implantation eine Angiographie mit Bilddokumentation durchgeführt. Des Weiteren werden arterielle Blutproben vor der Stentimplantation, vor und nach der Positronen-Emissions-Tomographie und bei Gruppe 2 noch am Tag 8 vor der MRI-Untersuchung entnommen. Folgende Blutparameter sind zu erheben: Glukose, Insulin, Laktat im Plasma und die freien Fettsäuren im Serum.

Ziel dieses Teils der geplanten Studie ist es, Stoffwechseluntersuchungen des Myokards zu zwei Zeitpunkten durchzuführen, an denen noch kein vollständiger Gefäßverschluss vorliegt und noch kein tödlicher Myokardinfarkt aufgetreten ist, aber bereits gravierende Wandbewegungsstörungen und/oder Wandverdickungen vorhanden sind und auf Stoffwechselanpassungen an eine Minderperfusion schließen lassen:

Gruppe 1 wird zum Zeitpunkt eine Woche nach Versuchsbeginn untersucht, Gruppe 2 zum Zeitpunkt einer fortgeschrittenen Gefäßstenose nach 4 Wochen. Nach diesen Zeiträumen wird eine Kontrollangiographie der Herzkranzgefäße mit Bilddokumentation durchgeführt und die Tiere zum Positronen-Emissions-Tomographen transportiert, in dem das Glukoseanalog ^{18}F FDG und der Durchblutungsparameter ^{13}N H₃ gemessen werden.

Hierauf erfolgt die Tötung des Versuchstieres, die Sektion mit Öffnung des Thorax und Herzentnahme.

Anschließend erfolgt eine Spülung der Herzkammern mit einem Eis-Phosphat buffered saline (PBS)-Gemisch, nachdem die Koagel durch Vorspülung im gekühlten PBS entfernt wurden.

Es werden ca. 1,5 cm dicke koronare Schnitte angefertigt, die bei -70°C für molekularbiologische Untersuchungen aufbewahrt werden.

Daneben werden von allen Tieren paraffineingebettete transmurale Myokardproben histologisch untersucht.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Die molekularbiologischen Untersuchungen (Quantifizierung der Expression von Glukose-transportern und der Hexokinase II auf Ebene der Proteine und der mRNA im Herzmuskel) sind Gegenstand der Arbeit von PRAUS und STICKEL (in Vorb.).

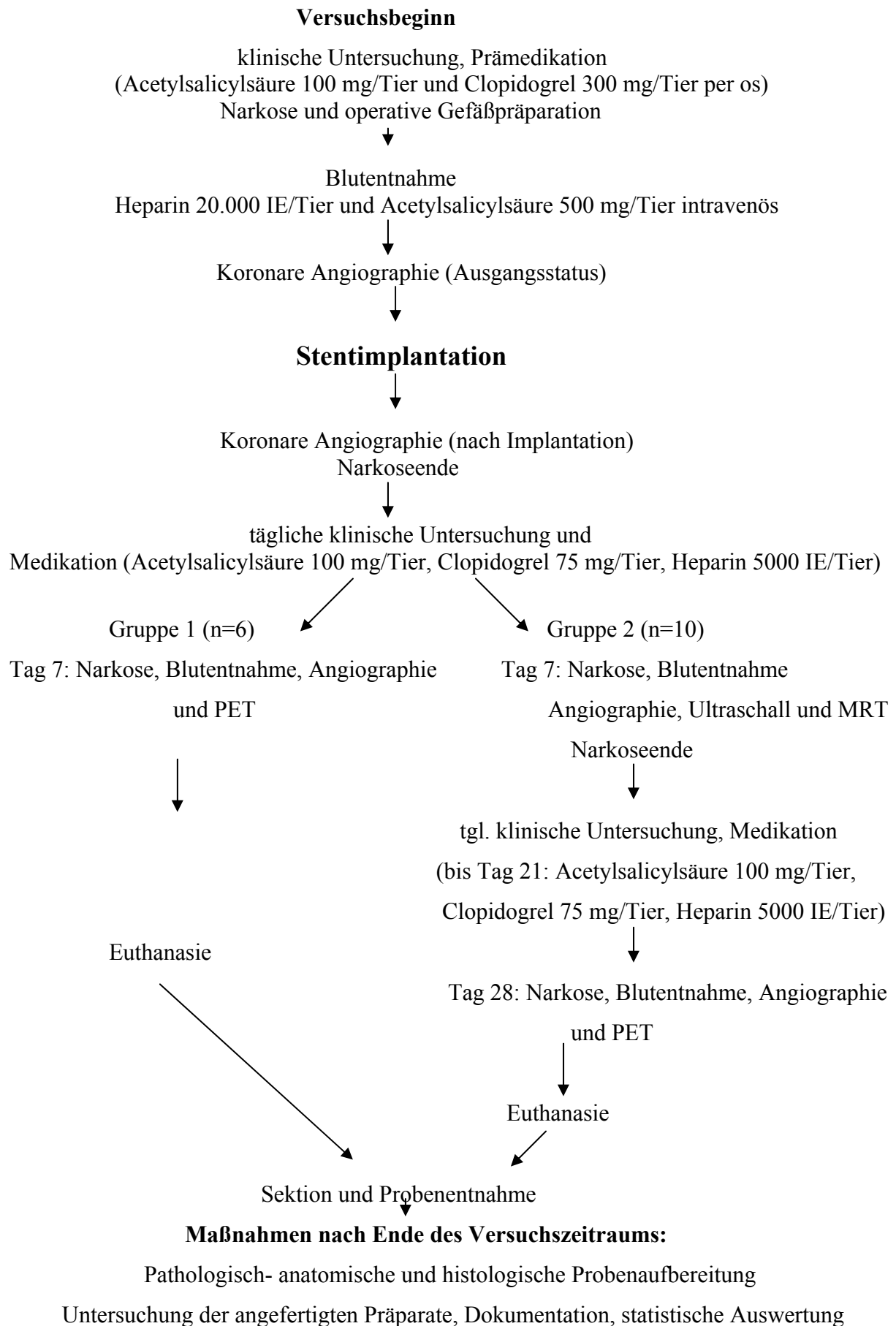


Abb. 5: Versuchsplan

3.2.3 Versuchsdurchführung

Tabelle 2: Versuchsplan, tabellarisch dargestellt

Nr	Schwein (Ohrmarke)	Gewicht [kg]	Stent- implantation am Tag 0	MRI/Ultraschall am Tag 8	PET/Ultraschall am Tag 7 bzw. 28	Euthanasie nach [Tag]
1	23165	39	X		Tag 7	7
2	23129	36	X		Tag 7	7
3	23243	34	X		Tag 7	7
4	23192	35	X			† (Tag 1)
5	5146	36	X		Tag 7	7
6	23242	35	X		Tag 28	28
7	23507	35	X		Tag 7	7
8	23712	45	X	X	Tag 28	28
9	29	34	X	X		† (Tag 8)
10	24271	32	X	X	Tag 28	28
11	24494	35	X			† (Tag 5)
12	24464	33	X	X	Tag 28	28
13	24699	38	X			† (Tag 8)
14	24581	33	X	X		† (Tag 8)
15	24977	32	X	X	Tag 28	28
16	26842	35	X			† (Tag 2)

Schwein Nr. 4, 9, 11, 13, 14 und 16 sterben vor Versuchsende

3.2.3.1 Präparation des Gefäß verengenden Stents

Stents sind röhrenförmige mechanische Stützen, die normalerweise dem Offenhalten von Gefäßen bei einem drohenden Verschluss dienen.

In der vorliegenden Studie soll ein solcher Stent nicht zur Erweiterung des Gefäßlumens, sondern zu seiner Verengung führen. Dazu verwendet man einen kommerziell erhältlichen Stent. Der Jostent® Coronary Stent (Fa. Jomed GmbH, Deutschland) wird mit einer scharfen Schere unter dem Mikroskop auf einer Länge von 13 mm durchtrennt, wobei die Drahtenden umgebogen oder abgeschnitten werden, um eine Perforation des Ballons zu vermeiden. Der Stent wird auf eine weiße Kanüle gesteckt und in die Länge gezogen, um den Durchmesser von 1,5 mm als innere Normgröße zu erreichen. In der Mitte des Stents wird zweimal ein

Faden (Prolene® 5/0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) gebunden, der mit Knoten fixiert wird (Abb. 6a). Mit dieser Ligatur soll eine Teilstenose im Stent erreicht werden. Anschließend wird der Stent auf den Ballon (20 mm lang, 3,0 mm Durchmesser) aufgebracht, der mit 0,5-1,0 atm leicht geblockt wird, um ein Abrutschen des vorpräparierten Stents zu vermeiden (Abb. 6b). Somit wird ein initialer Stenosegrad von 75 % angestrebt.

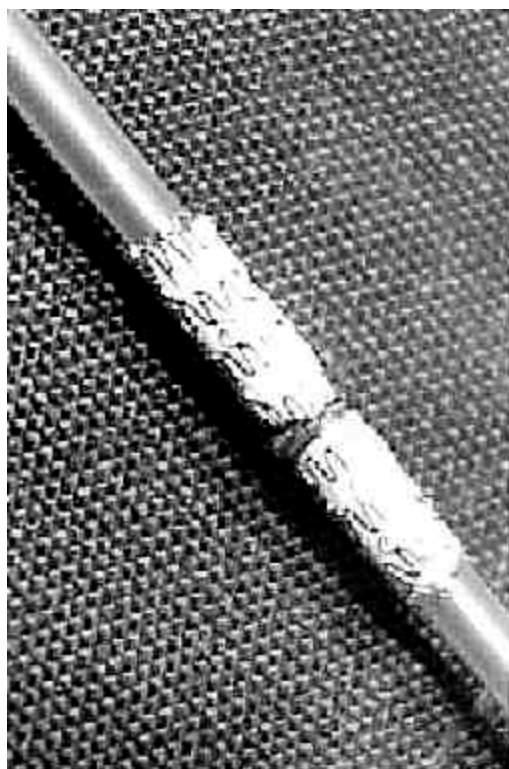


Abb. 6a: Stent auf Kanüle



Abb. 6b: Stent auf dem Ballonkatheter

3.2.3.2 OP-Vorbereitung

Drei Tage vor Versuchsbeginn werden die Tiere vom Zuchtbetrieb in die Stallungen des Institutes verbracht. Dort erfolgt eine klinische Allgemeinuntersuchung unter besonderer Berücksichtigung von Herz-Kreislauf-System und Atmungsapparat.

Um das Koagulationsrisiko zu minimieren und die Thrombosebildung im Bereich des Stents zu vermeiden, erhalten die Tiere zur Hemmung der Thrombozytenaggregation täglich 100 mg Acetylsalicylsäure (Aspirin®, Fa. Bayer, Leverkusen) und 300 mg Clopidogrel (Iscover®, Fa. Bristol-Myers Squibb Pharma EEIG, Großbritannien) per os.

3.2.3.3 Anästhesie

Eine halbe Stunde vor Narkoseeinleitung erhalten die Tiere zur Sedation intramuskulär Azaperon 2 mg/kg KG (Stresnil®, Fa. Janssen GmbH, Neuss), Ketaminhydrochlorid 10 mg/kg

KG (Narketan®, Fa. Chassot GmbH, Ravensburg) und Atropinsulfat 0,5 mg/Tier in einer Mischspritze. Bei ausreichender Sedation nach ca. 15-20 Minuten erfolgt die Einleitung der Narkose durch intravenöse Injektion von Narcobarbital (Eunarcon®, Fa. Pharmacia & Upjohn, Erlangen) in einer Dosierung von 10 bis 15 mg/kg KG über einen Venenverweilkatheter (Veflon TM Pro, 1,1x 32 mm, Fa. Becton Dickinson, Helsingborg, Sweden) in eine der Ohrrendvenen (Vena auricularis lateralis).

Nach endotrachealer Intubation (Magall-Tubus Ø 6,5-8, Fa. Rüsch, Waiblingen) erhalten die Schweine zur antibiotischen Prophylaxe Cephalosporin (Cefuroxim 750, Fa. Brahms Arzneimittel GmbH, Wiesbaden) intravenös, um einen ausreichend hohen Antibiotikaspiegel intra operationem zu erzielen.

Anschließend wird das Tier in den Operationsraum gebracht, in Rückenlage auf dem OP-Tisch fixiert und an das Beatmungsgerät (Dräger Servo Ventilator 900B, Fa. Siemens AG, Lübeck) zur kontrollierten Beatmung angeschlossen.

Präoperativ wird, um eine ausreichende Analgesie zu erhalten, Fentanyl Dihydrogencitrat (Fentanyl-Janssen®, Fa. Janssen GmbH, Neuss) im Bolus ca. 0,025 mg/kg KG intravenös appliziert.

Während der Stentimplantation wird eine totale intravenöse Anästhesie mit Propofol (Disoprivan® 2%, Fa. Astra Zeneca GmbH, Wedel) über einen Perfusor (Perfusor® Secura, Fa. B.Braun) durchgeführt. Zur Narkoseaufrechterhaltung liegt die Dosierung in der Regel zwischen 6 bis 12 mg/kg KG/h (8 bis 15 ml/h). Die Dosierung wird individuell der Reaktion des Tieres angepasst.

Die Flüssigkeitssubstitution erfolgt intra operationem mit Ringerlösung (Delta Pharma GmbH, Boehringer Ingelheim, Pfullingen) in einer Dosierung von ca. 10 ml/kg KG/h.

Die Narkoseüberwachung erfolgt durch EKG (Lucius und Baer GmbH, Geretsried), Pulsoximetrie (Lifestat 1600, Fa. Physio Control Corporation, Redmond USA), Atemgasmessung (Capnomac Ultima, Fa. Datex, Helsinki, Finnland) sowie arterielle Blutdruckkontrolle (HBV20, Fa. Biotronik- Meß- und Therapiegeräte GmbH, Berlin).

Zu Anästhesieende werden die Tiere mit reinem Sauerstoff beatmet und mit Einsetzen des Schluckreflexes extubiert, in Einzelboxen aufgestellt und bis zur vollständigen Rekonvaleszenz permanent überwacht. Erst ungefähr 12 Stunden nach Narkoseende wird die Fütterung wieder aufgenommen.

3.2.3.4 Operatives Vorgehen zur Stentimplantation

Bei dem in Rückenlage ausgebundenem Schwein wird die linke Halsseite rasiert, mit einer Alkohol-Jod-Lösung (Kodan®, Fa. Schülke und Mayr GmbH, Norderstedt) desinfiziert und

steril abgedeckt. Die Hautinzision erfolgt an der linken ventralen Halsseite auf einer gedachten Verbindungslinie zwischen Kieferwinkel und Manubrium sterni.

Die A. carotis communis sinistra wird freipräpariert und nach SELDINGER- Technik eine 7-French-Gefäßschleuse (Terumo®, Frankfurt/Main) angelegt, die mit einem Faden (Vicryl® 3-0 USP, runde, atraumatische Nadel, Fa.Ethikon GmbH, Norderstedt) an das umliegende Muskelgewebe fixiert wird.

Nach intravenöser Gabe von 20.000 IE Heparin (Liquemin® N 25 000, Fa. Hoffmann- La Roche AG, Grenzsach- Wühlen) und 500 mg Acetylsalicylsäure (Aspisol®, Fa. Bayer Vital, Leverkusen) als Antikoagulans wird unter Durchleuchtungskontrolle (Exposcop 7000, Fa. Ziehm GmbH, Nürnberg) ein Judkins-Right-3,5-Führungskatheter (Fa. Cordis, Haan) über den Truncus brachiocephalicus eingeführt und das linke Koronarostium im Bulbus aortae sondiert. Um den Führungskatheter am richtigen Ort zu platzieren, wird ein 0,035-inch-Führungsdraht (Fa.Cordis, Haan) verwendet. Zur leichteren Orientierung und zur Überprüfung der Lage der Herzkatheterspitze injiziert man durch den Katheter ein Kontrastmittel (Imeron® 300, Fa. Byk Gulden, Konstanz).

Im Weiteren wird mit einem dünnen 0,014-inch-Führungsdraht (Fa.Cordis, Haan), der über den platzierten Führungskatheter eingeführt wird, der linke Ramus interventricularis paraconalis (LAD) sondiert.

Ein der Gefäßgröße entsprechender Ballonkatheter vom Typ Express (3,0 oder 3,5 express®, Fa. Boston Scientific, Ratingen) wird im deflatiertem Zustand mit aufgesetztem modifiziertem Stent (siehe Kap. 3.2.3.1) über den Führungsdraht in die LAD distal des ersten Gefäßabganges vorgeschoben. Nun erfolgt die Aufdehnung des Ballons mit Hilfe eines Drehinflatoren (Intellsystem R25, Merit Medical, Ireland) bei durchschnittlich 16 atm. Die korrekte Position und Expansion des Stents wird angiographisch unter Durchleuchtung geprüft und dokumentiert.

Nach erfolgter Stentimplantation wird der Katheter gezogen, die Gefäßschleuse aus der A. carotis communis sinistra entfernt und die Punktionsstelle ligiert. Der Wundverschluss erfolgt zweischichtig durch fortlaufende Unterhautnaht (3-0 Vicryl®, Fa. Ethikon GmbH, Norderstedt) und Einzelheft- Hautnaht (2-0 Prolene®, Fa. Ethikon GmbH, Norderstedt).

3.2.3.5 Postoperative Versorgung

Die Tiere erhalten zur postoperativen **Schmerzlinderung** während der Aufwachphase langsam intravenös 20 bis 50 mg/kg KG Metamizol (Novalgin®, Fa. Aventis Pharma GmbH, Bad Soden am Ts.) in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und am 1. bis 3. Tag 4 mg/kg KG Carprofen (Rimadyl®, Fa. Pfizer, Karlsruhe) per os.

Weiterhin wird als **Antikoagulans** den Schweinen niedermolekulares Heparin (Fraxiparin®, Fa. Sanofi-Synthelabo GmbH, Berlin) 5000 IE subkutan gespritzt. Am darauffolgenden Tag beginnt die tägliche Medikation von 100 mg Acetylsalicylsäure (Aspirin® 100, Fa. Bayer, Leverkusen) und 75 mg Clopidogrel (Iscover®, Fa. Bristol-Myers Squibb Pharma EEIG, Großbritannien) per os. 5000 IE Heparin (Fraxiparin®, Fa. Sanofi-Synthelabo GmbH, Berlin) werden subkutan über einen Zeitraum von 7 (Gruppe 1) bzw. 21 Tagen (Gruppe 2) verabreicht. Des Weiteren wird täglich eine klinische Untersuchung der Tiere durchgeführt.

3.2.3.6 Operatives Vorgehen für Untersuchungen im PET und im MRT

Es wird in die zweite A. carotis (re. Halsseite) und in die A. femoralis eine Schleuse eingelegt und eine Angiographie erfolgt. Zur Durchführung der Angiographie und der MRT (Tag 8 post Stentimplantation) und PET nach Ablauf des Versuchszeitraums von 7 Tagen (Gruppe 1; n = 5) bzw. 28 Tagen (Gruppe 2; n = 5) nach der Implantation des vorpräparierten Stents werden die Tiere, im Anschluss an einer klinischen Untersuchung, erneut entsprechend der im Kapitel 3.2.3.3 bereits beschriebenen Vorgehensweise anästhesiert. Während der MRT- bzw. PET-Untersuchung wird unter kontrollierter Beatmung die Anästhesie zusätzlich per Inhalation mit einem Trägergasgemisch aus Lachgas und Sauerstoff im Verhältnis 2:1 und 0,8 bis 1 Vol % Isofluran (Forene®, Fa. Abott GmbH, Wiesbaden) fortgeführt.

Um Kontamination durch Urin während der ca. 3-stündigen Tomographie (PET) zu vermeiden, wird den Tieren zuvor ein Blasenkatheter gelegt.

Die Durchführung der koronaren Angiographie, zur visuellen Beurteilung des Grades der Gefäßstenose, entspricht im Allgemeinen der im Kapitel 3.2.3.4 beschriebenen Technik.

3.2.3.7 Vitalitätsnachweis mit der Positronen Emissions Tomographie (PET)

Nachdem das Tier in den Ganzkörper-Scanner (CTI/ECAT 951R/31, Fa. Siemens/CTI) des Tomographen verbracht ist, beginnt die dynamische Messung:

- intravenöse Applikation (30 sec.) des Radiopharmakas (20 mCi $^{13}\text{NH}_3$)
- dynamische Messungen von 12x10 sec., 6x30 sec. und 3x300 sec
- eine halbe Stunde später intravenöse Applikation des Radiopharmakas (10 mCi ^{18}FDG)
- erneute dynamische Messung

Nach Beendigung der Untersuchung werden mit einem Computerprogramm die Ergebnisse analysiert und ein dreidimensionales Bild des Herzens rekonstruiert. Somit ist eine Interpretation der Verteilung der Radiopharmaka möglich (Abb.7).

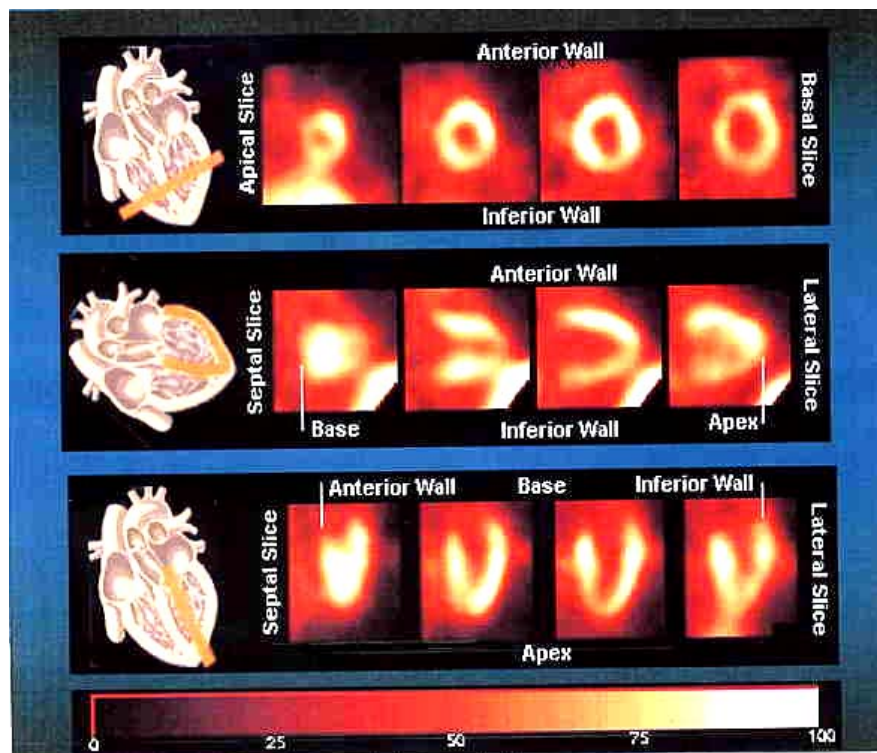


Abb. 7: Schema zur PET-Rekonstruktion (mit freundlicher Genehmigung von Alexander Praus)

Die Intensität der Aktivität wird in Prozent (0 bis 100 %) angegeben. Ein deutlich reduzierter Blutfluß liegt bei < 50% vor

3.2.3.8 Messung der Wandbewegung und Vitalität mit der Magnetresonanztomographie (MRT)

Die Untersuchung der Schweine erfolgt an einem 1,5-T-Scanner (ACS NT, INCA Software, Fa. Philips) mit einer speziellen Herzsple. Untersucht werden die linksventrikuläre regionale Wandbewegung und die Vitalität.

1. Messung der linksventrikulären Pumpfunktion (Wandbewegung):

Zur lückenlosen Erfassung des linken Ventrikels werden fortlaufende Kurzachsenschnitte in „steady-state free-precession“-Technik (TE 1,4 ms; TR 2,9 ms; Schnittdicke 8 mm; räumliche Auflösung 1,4x1,2 mm²; Flip-Winkel 60°, zeitliche Auflösung 42 ms) von der Herzspitze bis zur –basis in Atemanhaltechnik (Finger auf Tubus) angefertigt. Die Beurteilung der Herzspitze erfolgt anhand von zwei Längsachsenschnitte (2- und 4-Kammer-Blick) in gleicher Aufnahmetechnik. Die Evaluierung der regionalen Wandbewegung wurde qualitativ visuell mittels einer 5-Punkte-Skala durchgeführt: Normokinesie (1+), geringgradige (2+) und schwere (3+) Hypokinesie, Akinesie (4+) sowie Dyskinesie (5+).

2. Vitalitätsnachweis (late enhancement)

Die Vitalitätsuntersuchung erfolgt 15 bis 20 Minuten nach der intravenösen Applikation des extrazellulären Kontrastmittels Gadolinium-diethylentriamin- Pentasäure (Gd-DTPA) in einer Dosierung von 0,2 mmol/kg KG (Magnevist®, Schering) Dabei wird eine dreidimensionale „Inversion-recovery turbo-gradient“-Echosequenz (TE 3,3 ms; TR 5,4 ms; EPI-Faktor 11; Schnittdicke 5mm; räumliche Auflösung 1,2x1,2 mm²; Flip-Winkel 15°; Akquisitionszeit 284 ms, TI nach visueller Beurteilung, zwischen 225 und 300 ms) verwendet. Die Beurteilung der Vitalität erfolgt visuell (erhöhte Signalintensität von Narbengewebe durch erhöhtes Verteilungsvolumen sowie verzögerter „wash-out“ im Narbengewebe).

3.2.3.9 Euthanasie, Sektion und Probenentnahme

Die Tiere werden im Anschluss an die in Kap. 3.2.3.7 beschriebenen und unter Vollnarkose durchgeführten Untersuchungen mit Pentobarbital-Na (Narcoren®, ca. 160 mg/kg KG i.v.) und 20 ml KCL-Lösung i.v. euthanasiert.

Unmittelbar nach der Tötung der Versuchstiere wird der Brustkorb beidseits auf Höhe der Knochenknorpelgrenze der Rippen eröffnet und der Herzbeutel vorsichtig aufgetrennt, um die Entnahme des Herzens durch Absetzen der zu- und ableitenden Gefäße zu ermöglichen. Dabei wird die Perikardhöhle auf pathologische Zustände wie Verwachsungen oder abnormen Inhalt geprüft. Das Herz wird ebenfalls makroskopisch untersucht und zu Dokumentationszwecke photographiert.

Anschließend wird das entnommene Herz mit gekühltem PBS (Phosphat buffered saline) vorgespült, um Koagel zu entfernen. Eine weitere Spülung mit einem Eis-PBS-Gemisch erfolgt, bevor 5 ca. 1,5 cm dicke koronare Schnitte (von der Spitze zur Basis) angefertigt werden, von denen kleine Gewebeproben für die Histologie, Protein- und mRNA-Bestimmung entnommen werden.

Anhand der ausgewerteten PET-Daten werden pro Tier folgende Gewebeproben entnommen (Tab.3):

- Histologieschnitt 1 (Kontrolle):

transmurale Gewebeprobe aus dem linken Ventrikel (LV) im Bereich der LCX. In dieser Region liegen im vorangegangenen PET weder Wandbewegungsstörungen noch eine reduzierte Durchblutung vor

- **Histologieschnitt 2 („fasted“ mismatch):**
transmurale Gewebeprobe aus dem linken Ventrikel (LV) im Bereich der LAD. Wandbewegungsstörungen, eine reduzierte Restdurchblutung und eine erhöhte FDG-Aufnahme können im vorangegangenen PET gemessen werden. Das Tier ist nüchtern („fasted“) und es erfolgt keine Glukosegabe
- **Histologieschnitt 3 („post insulin“ mismatch):**
transmurale Gewebeprobe aus dem linken Ventrikel (LV) im Bereich der LAD. Wiederum können Wandbewegungsstörungen und eine reduzierte Restdurchblutung gemessen werden, jedoch liegt eine erhöhte FDG-Aufnahme nur nach vorheriger Gabe von Glukose und Insulin vor
- **Histologieschnitt 4 (match):**
transmurale Gewebeprobe aus dem linken Ventrikel (LV) im Bereich der LAD mit Wandbewegungsstörungen und reduzierter Restdurchblutung. Keine FDG-Aufnahme nach Glukose- und Insulingabe kann beobachtet werden
- **Histologieschnitt 5 (Kontrolle):**
Gewebeprobe aus dem rechten Ventrikel
- **Histologieschnitt 6 (Kontrolle):**
Gewebeprobe aus dem rechten Vorhof

Teilweise können nicht alle Biopsien pro Schwein entnommen werden, weil kein „fasted“ oder „post insulin“ mismatch (s.u.) nach der PET-Messung vorliegt.

Die Herzmuskelproben werden zur Fixation in 6 %ige neutrale Formalinlösung gelegt.

Tabelle 3: Histologie- Code

Histologieschnitt	PET-Daten	Bezeichnung
1	LV: normale Wandbewegung und Durchblutung	KONTROLLE
2	LV- LAD: reduzierte Wandbewegung und Durchblutung, erhöhte FDG-Aufnahme (ohne Glukose- und Insulingabe)	„FASTED“ MISMATCH
3	LV- LAD: reduzierte Wandbewegung und Durchblutung, erhöhte FDG-Aufnahme nach Glukose und Insulin*	„POST INSULIN“ MISMATCH
4	LV- LAD: reduzierte Wandbewegung und Durchblutung, keine erhöhte FDG-Aufnahme nach Glukose und Insulin*	MATCH
5	Rechter Ventrikel	KONTROLLE
6	Rechter Vorhof	KONTROLLE

„fasted“ mismatch = nüchtern und ohne Glukose- und Insulingabe mit reduzierter Durchblutung und erhöhter FDG-Aufnahme,

„post insulin“ mismatch = nach Glukose- und Insulingabe mit reduzierter Durchblutung und erhöhter FDG-Aufnahme,

match = reduzierte Durchblutung und keine erhöhte FDG-Aufnahme

*Insulinstimulation

Die FDG-PET des Myokards wird heute überwiegend unter Insulinstimulation (endogen oder exogen) durchgeführt. Insulin führt zu einer Steigerung des Glukosestoffwechsels bzw. der FDG-Anreicherung im Myokard. Während bei niedrigem Insulinspiegel bevorzugt

ischämisches Myokard FDG speichert, kommt es unter Insulinstimulation zur Darstellung des gesamten vitalen Myokards, was die Lokalisation pathologischer Befunde erleichtert [SCHICHA und VOTH, 1994].

3.2.3.10 Histopathologie der Myokardproben

Die histopathologische Beurteilung der Schnitte erfolgt in einem Durchlichtmikroskop (Fa. Leizz, Wetzlar).

Die Myokardproben werden im Hinblick auf Veränderungen begutachtet, die für das „Hibernating Myokard“ als Folge einer ausgeprägten Stenosierung der Herzkranzgefäße typisch sind.

Zeichen eines „Hibernating Myokard“

- Keine Nekrose
- In Myozyten: **Glykogeneinlagerungen** durch Abbau von Sarkomeren oder Myofilamenten v.a. perinuklear und in der Zellperipherie => Nachweis mit der **PAS-Färbung**
- Mesenchymale Zellen (z.B. **Myofibroblasten**) => Nachweis mit der **α -SMA-Färbung**
- Geringgradige Vermehrung von **interstitiellem Kollagen** => Nachweis mit der **EvG-Färbung** (Tab. 4)

Entzündungszeichen:

- Entzündungszellen (z.B. **T-Zellen**) => Nachweis mit der **CD3-Färbung**
- Hyperämie

Tabelle 4: Histologische Färbungen zur Charakterisierung eines Hibernierenden Myokards

Hibernierendes Myokard			Entzündung
Ausdehnung und Zelldichte		Stoffwechsel	Entzündung
<u>EvG-Färbung:</u> Kollagengehalt	<u>α-SMA:</u> Myofibroblastengehalt	<u>PAS-Färbung:</u> Glykogengehalt	<u>CD3:</u> T-Zellen-Gehalt

3.2.3.11 Verarbeitung der Proben

3.2.3.11.1 Paraffinhistologie

Nach Paraffineinbettung der formalinfixierten Proben – ausschließlich die den Stent enthaltenden Gewebestücke – werden mit einem Serienschnittmikrotom ca. 5 µm dicke Schnitte angefertigt. Die Färbung der Schnitte erfolgt mit

- Hämatoxylin- Eosin (HE)
- Elastica van Gieson (EvG)
- Perjodsäure-Schiffssches Reagenz (PAS) zur Identifizierung von Glykogeneinschlüssen (PAS-positive Zellen färben sich rosa an)

3.2.3.11.2 Immunhistochemie

Im Vordergrund dieser Untersuchung steht die Ermittlung

- des Gehalts mesenchymaler Zellen (α -SMA Färbung)
- des T-Zellengehalts (CD3 Färbung)

Bei der in Abb. 8 dargestellten Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase (APAAP)-Methode bindet zunächst an einen unkonjugierten Primärantikörper (Fa. Dako Corporation, USA) ein Brückenantikörper (Fa. Dako ChemMate TM Detection Kit, USA), welcher gegen den Primärantikörper gerichtet ist. Darauf folgt der sogenannte APAAP-Komplex, welcher an den Brückenantikörper bindet.

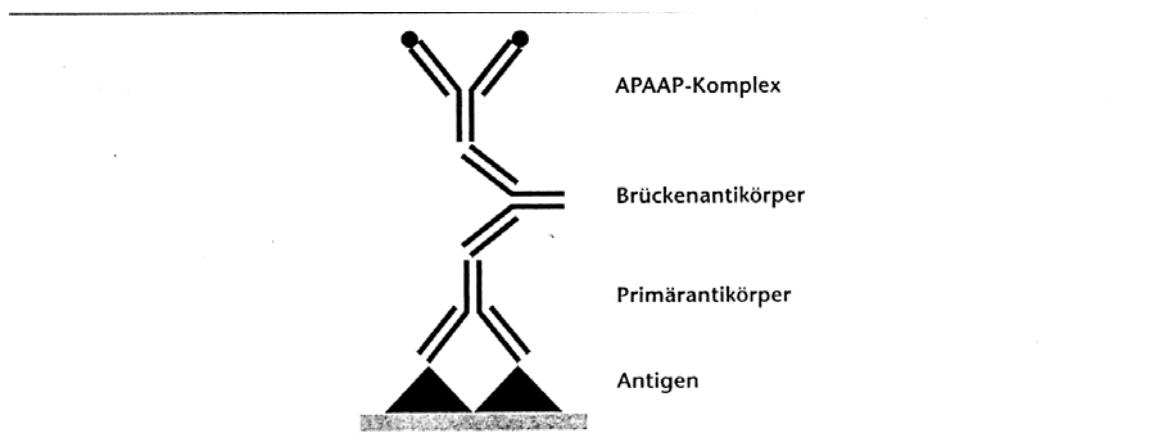


Abb. 8: Schema der APAAP- Methode (aus NOLL und SCHAUB-KUHLEN 2000)

Der APAAP-Komplex besteht aus dem Enzym *Alkalische Phosphatase* und aus einem Antikörper, der gegen das Enzym *Alkalische Phosphatase* gerichtet ist.

Der Primärantikörper und der Antikörper des APAAP-Komplexes stammen aus der selben Spezies, so dass der Brücken- bzw. Sekundärantikörper diese verbinden kann.

Die formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Proben werden wie folgt verarbeitet:

- Die Schnitte werden über Nacht im Brutschrank bei 60 °C getrocknet.
- Zur Entwässerung und Entparaffinierung werden die Schnitte in frisches Xylol und in eine Alkoholreihe mit absteigender Konzentration eingetaucht und anschließend mit Aqua dest. kurz gespült.
- Die durch die Formalinfixierung verursachte Proteinvernetzung wird durch Erhitzen der Schnitte in einer kalziumpräzipitierenden Lösung (Citrat-Puffer pH 6,0) wieder aufgehoben. So kann der Antikörper sein spezifisches Epitop wieder erkennen. Dazu werden die Präparate in einen Kochtopf mit 2 Liter kochendem Citrat-Puffer gestellt.
- Die Schnitte werden herausgenommen und eine einstündige Inkubation erfolgt nach Zugabe des Primärantikörpers, ein monoklonaler Maus-Antikörper (Anti-Human Muscle Actin, Clone HHF35, Code No.: M 0635, Fa. Dako Corporation, USA).
- Es erfolgt eine Spülung mit Tris- Puffer (Trizma-Base in Aqua dest. gelöst).
- Der Sekundärantikörper (Anti- Maus Immunglobuline aus dem Kaninchen, Code No. K 5000, Dako ChemMate TM Detection Kit, USA), der eine Brücke zwischen dem Primärantikörper und dem Komplex bildet, wird im Überschuss zur Reaktion zugegeben und 30 Minuten inkubiert.
- Der Enzym-anti-Enzym-Komplex (Alkalische Phosphatase-anti-alkalische Phosphatase), der von der Firma Dako, USA als Fertigprodukt in sogenannte Detektionskits angeboten wird, wird auf die Schnitte aufgetragen. Diese Kits beinhalten neben den Komplexen auch die dazu passenden Brückenantikörper (Sekundär-) und Chromogene. In der vorliegenden Arbeit besteht der Komplex aus dem Enzym *Alkalische Phosphatase* des Darmgewebes vom Kalb und monoklonalen Maus-Antikörpern gegen die intestinale *Alkalische Phosphatase* des Kalbs.
- Zu guter Letzt erfolgt die Zugabe des Farbstoffes für die Immunhistochemie. Das Chromogen für die Reaktion mit alkalischer Phosphatase ist „Fast Red“ (rotbraunes Farbprodukt), zur Gegenfärbung wird Hämalun (blau) verwendet.

Die oben beschriebene APAAP-Methode wird zum Nachweis des alpha-smooth-muscle-actin (α -SMA) zur Bestimmung des Myofibroblastengehalts verwendet (Abb. 9). Die positiven Zellen stellen sich rotbraun dar.

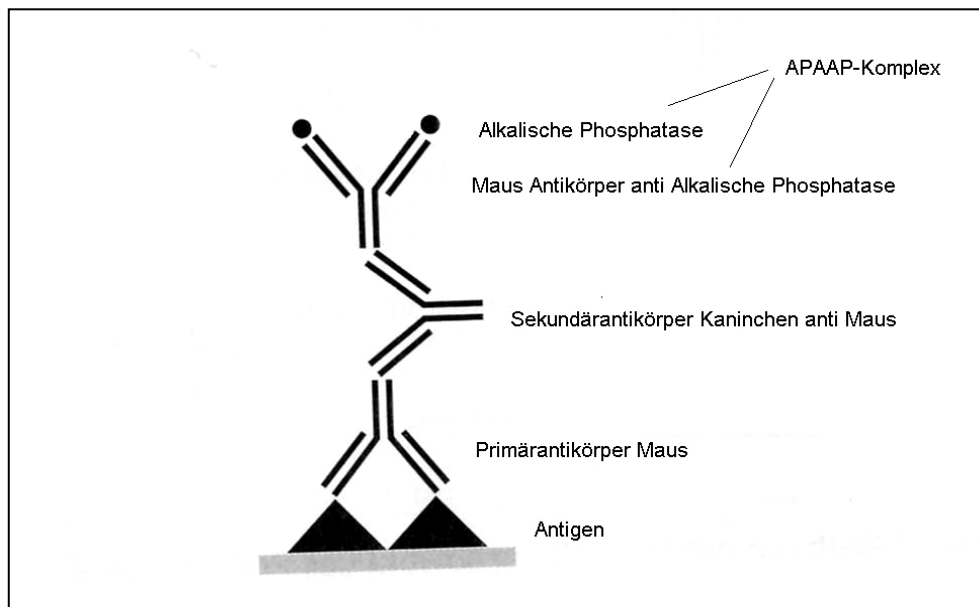


Abb. 9: Schema der APAAP- Methode (modifiziert nach NOLL und SCHAUB-KUHLEN 2000)

Die CD 3 Färbung zur Bestimmung der Entzündungszellen (T-Zellgehalt) wird nach der labeled Streptavidin-Biotin (LSAB)-Methode (Abb. 10) hergestellt. Bei dieser Methode wird die starke Bindung zwischen Avidin und Biotin zunutze gemacht.

Das Untersuchungsmaterial wird, wie oben beschrieben, vorbehandelt. Nachdem die Schnitte aus dem kochenden Citrat-Puffer entnommen sind, erfolgt die Hemmung der endogenen Peroxidase, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden. Das Enzym findet sich hauptsächlich in Granulozyten, Mastzellen und Erythrozyten, weniger in Dünndarmgewebe und in Nervenzellen. Das einfachste Mittel zur Eliminierung der endogenen Peroxidase ist eine Inkubation des Präparates mit 3%-igem Wasserstoffperoxid (H_2O_2) über 15 Minuten.

Bei dieser Methode wird in der vorliegenden Arbeit ein polyklonaler Primärantikörper aus dem Kaninchen (Anti-Human T-cell, CD 3, Code No.: N1580, Fa. Dako Corporation, USA) verwendet. Die Inkubationszeit beträgt wieder 1 Stunde.

Der im handelsüblichen Detektionskit enthaltene biotinylierte Sekundärantikörper aus der Ziege (Code No.: K 5001, Dako ChemMateTM Detection Kit, USA) wird für eine halbe Stunde auf die Präparate aufgetragen. Nach der Spülung folgt die Zugabe des Streptavidin-Peroxidase-Komplexes und des Substrates 3,3-Diaminobenzidin (DAB). Die T-Zellen stellen sich braun dar. Die Gegenfärbung wird mit Hämalaun (blau) durchgeführt. Anschließend werden die Präparate in eine aufsteigende Alkohollösung getaucht.

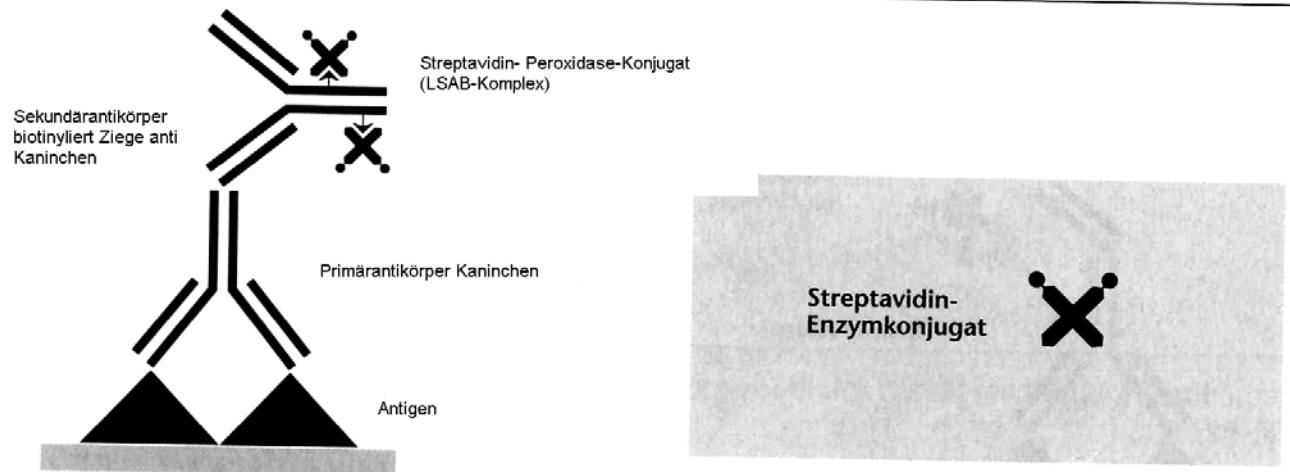


Abb. 10: Schema der LSAB- Methode (modifiziert nach NOLL und SCHAUB-KUHNEN 2000)

3.2.3.11.3 Histomorphometrie

Im Vordergrund dieser Untersuchung steht die Ermittlung

- der Kollagenfläche (Elastica van Gieson Färbung)
- des Myofibroblastengehalts (α -smooth-muscle-actin Färbung)

Für die Histomorphometrie werden zunächst die angefertigten Schnitte fotografiert (3 CCD Color Video Camera, AVT Horn, Aalen). Nach erfolgter Kalibrierung beginnt die Messung. Durch Umfahren der rot gefärbten Bezirke mit der Maus kann die Fläche mit Hilfe eines Bildanalyseprogramms (Axio Vision) in Verbindung mit einem PC in μm^2 bestimmt werden.

In der Elastica-van-Gieson-Färbung stellen sich kollagenes Bindegewebe rot, die Muskulatur gelb und elastische Fasern sowie Zellkerne schwarz dar (Abb. 11 und 12). Die gemessene rote Kollagenfläche wird im Verhältnis zur Gesamtfläche des Gewebes gesetzt.

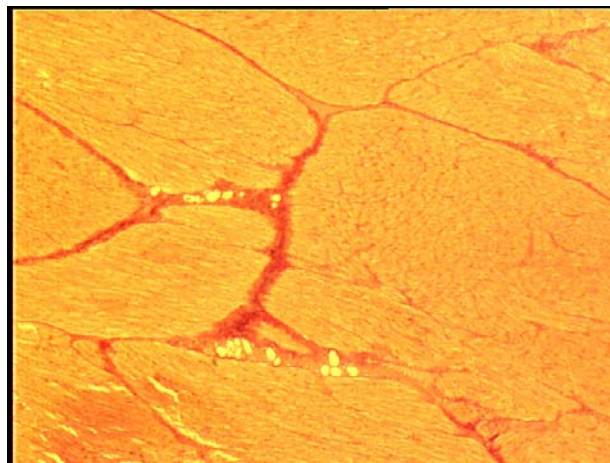


Abb. 11: Schwein 8, rechter Vorhof, EvG-Färbung, 2,5x

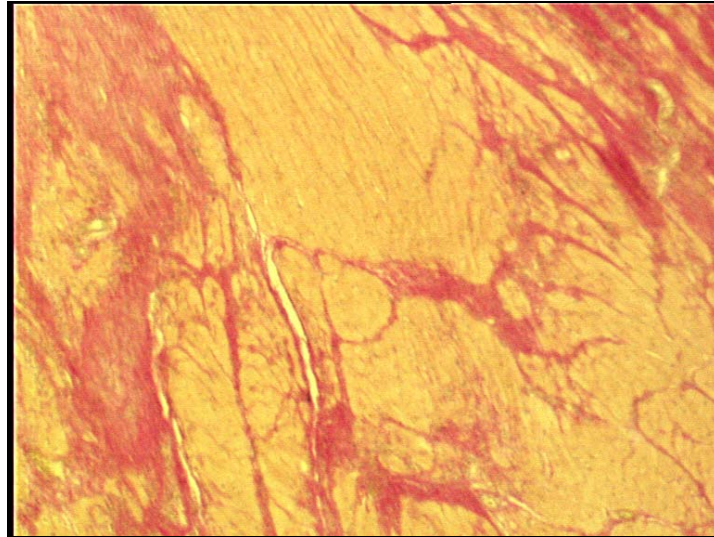


Abb. 12: Schwein 10, LAD-Region, EvG-Färbung, 2,5x

In der α -SMA-Färbung stellen sich die positiven mesenchymalen Zellen, die Aktin exprimieren rot dar.

3.2.4 Statistische Auswertung

Die Signifikanzberechnung zwischen den Vergleichsgruppen werden mit dem parameterfreien Wilcoxon-Test für unverbundene Stichproben im Statistikprogramm SPSS® Version 11,5 (SPSS Inc., Cincinnati, USA) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgelegt.

Für die ermittelten Daten werden in beiden Gruppen der Median, die Minimal- und Maximalwerte berechnet und verbal, tabellarisch sowie graphisch durch Box-Plot dargestellt.

3.3 Ergebnisse

3.3.1 Überlebensrate

Von den insgesamt 16 Versuchstieren überleben 10 Schweine (62,5 %) die Spanne bis zum Ende des Versuchszeitraums von 7 bzw. 28 Tagen.

Während der Stentimplantation erleidet **Schwein Nr. 4** (Ohrmarken-Nr. 23192) einen akuten Herzstillstand, dem ein im EKG nachweisbares Kammerflimmern vorausgeht. Bei dem Tier tritt das Kammerflimmern unmittelbar nach dem Einführen eines Führungskatheters in den Koronarsinus auf, bevor der Stent implantiert werden kann.

Das **Schwein Nr. 9** (Ohrmarken-Nr. 29) verendet acht Tage post implantationem während der MRT-Untersuchung aufgrund einer akuten Ateminsuffizienz mit darauf folgendem Herzstillstand. Die Implantation der Gefäßstütze war komplikationslos verlaufen.

Schwein Nr. 11 (Ohrmarken-Nr. 24494) stirbt fünf Tage post implantationem an den Folgen eines Herzinfarktes aufgrund eines vollständigen Verschlusses des Gefäßes.

Schwein Nr. 13 (Ohrmarken-Nr. 24699) verendet ohne vorherige klinische Anzeichen am achten Tag post implantationem.

Schwein Nr. 14 (Ohrmarken-Nr. 24581) ist am achten Tage post implantationem in der Aufwachphase nach der MRT-Untersuchung euthanasiert worden. Eine ca. faustgroße, derbe Umfangsvermehrung im ventralen Halsbereich kann palpiert werden, die zu einem akuten Atemstillstand in der Narkoseausleitung führt.

Drei Tage post implantationem zeigt das **Schwein Nr. 16** (Ohrmarken-Nr. 26842) ein stark reduziertes klinisches Allgemeinbefinden mit Anorexie und Vomit. Trotz tiermedizinischer Betreuung und Medikation bessert sich das Allgemeinbefinden nicht, das Tier wird am 3. Tag post OP eingeschläfert.

Die Sektionsergebnisse werden in Kapitel 3.3.2 beschrieben.

Somit bleiben für die Auswertung 10 Versuchstiere, die den kompletten Versuchszeitraum von 7 bzw. 28 Tagen überleben.

3.3.2 Postmortale Untersuchungen

3.3.2.1 Pathologisch-anatomische Befunde an den Herzen

Bei der Beurteilung der Brusthöhle sind bei keinem der Tiere pathologisch-anatomische Veränderungen, wie Verklebungen, Flüssigkeitsansammlungen oder hyperämische Bereiche zu erkennen.

Planmäßig am Tag 7 bzw. 28 post implantationem euthanasierte Versuchstiere

Von den insgesamt 10 Schweinen, die den kompletten Versuchszeitraum überlebt haben, weisen 7 Tiere makroskopisch sichtbare Befunde am Herzen auf.

Die **Schweine Nr. 1, 2 und 5** zeigen alle bei der Sektion ein weiß-gelbliches, mit dünnem rotem Randsaum umgebenes, trockenes Areal im Bereich der linken Kammerwand und der Herzspitze. Diese Farbveränderung umfasst alle Wandschichten von subendo- bis subepikardial. Die beschriebenen Bezirke fallen durch eine starke Verminderung der Wanddicke auf. Die Veränderungen im Bereich der Herzspitze liegen im Versorgungsgebiet der LAD bzw. ihres R. collateralis distalis, während die veränderten Bereiche der linken Kammerwand auf das Versorgungsgebiet des R. collateralis proximalis der LAD entfallen.

Bei den **Schweinen Nr. 7 (Abb. 13 und 14), 10, 12 und 15 (Abb. 15)** fällt im Bereich der linken Kammerwand und der Herzspitze ein rötlich-graues Areal auf, das wiederum alle Wandschichten betrifft.

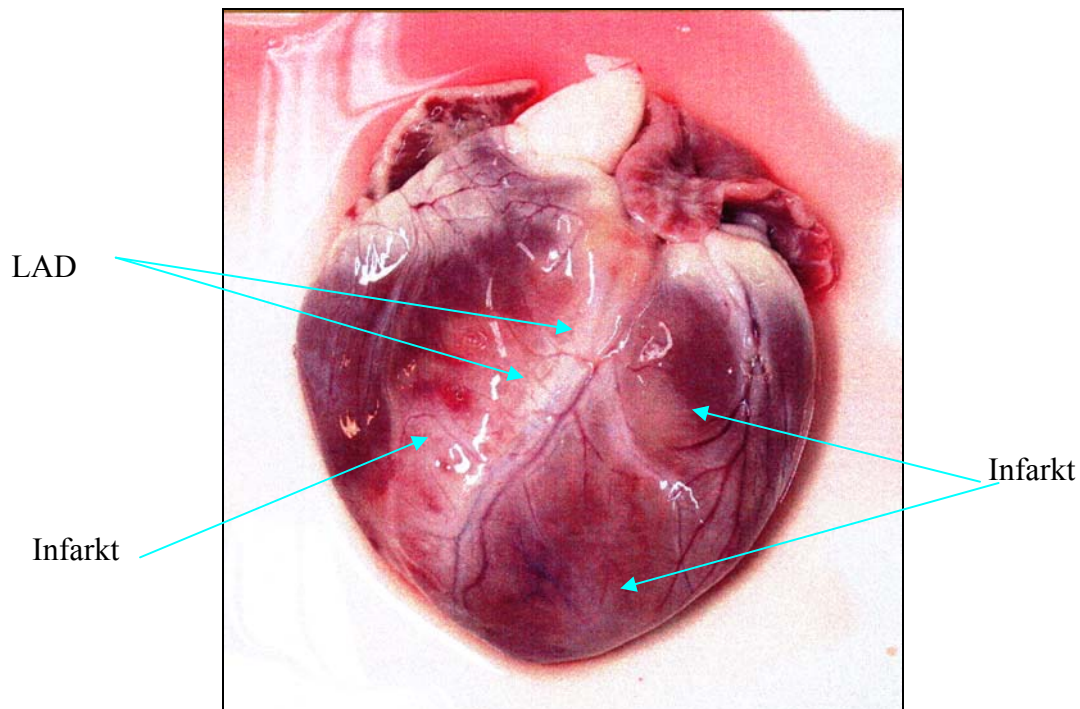


Abb. 13: Herz von Schwein Nr. 7 mit Infarktstellen im Versorgungsbereich der LAD (=linke Koronararterie)

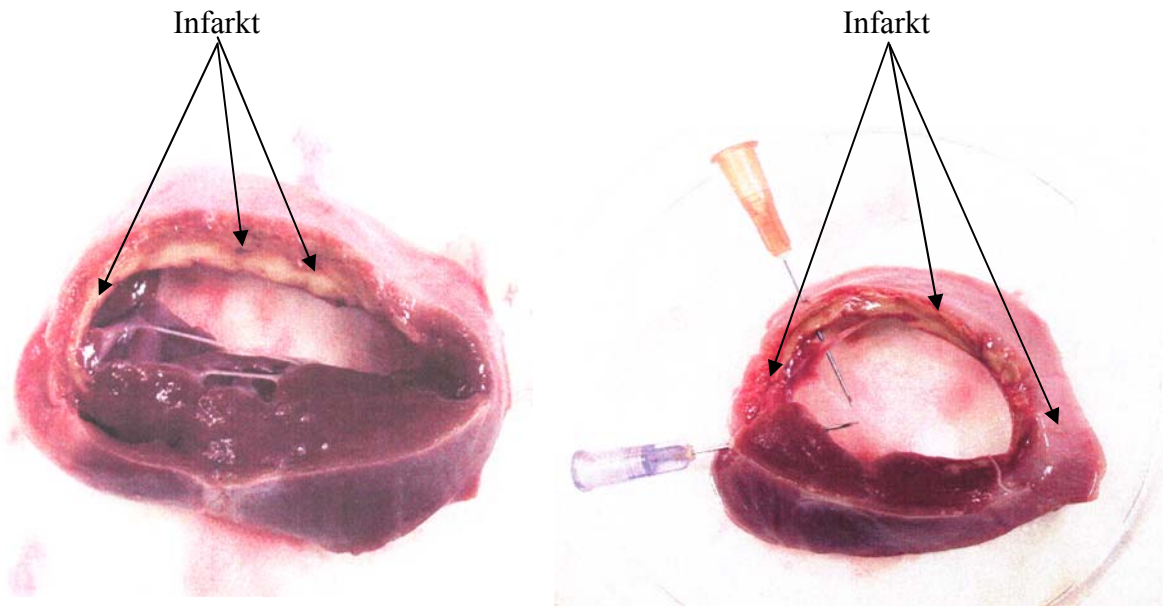


Abb. 14: koronare Schnitte des Herzens von Schwein 7 mit Infarktstelle im Bereich der linken Herzkammer und des Septums

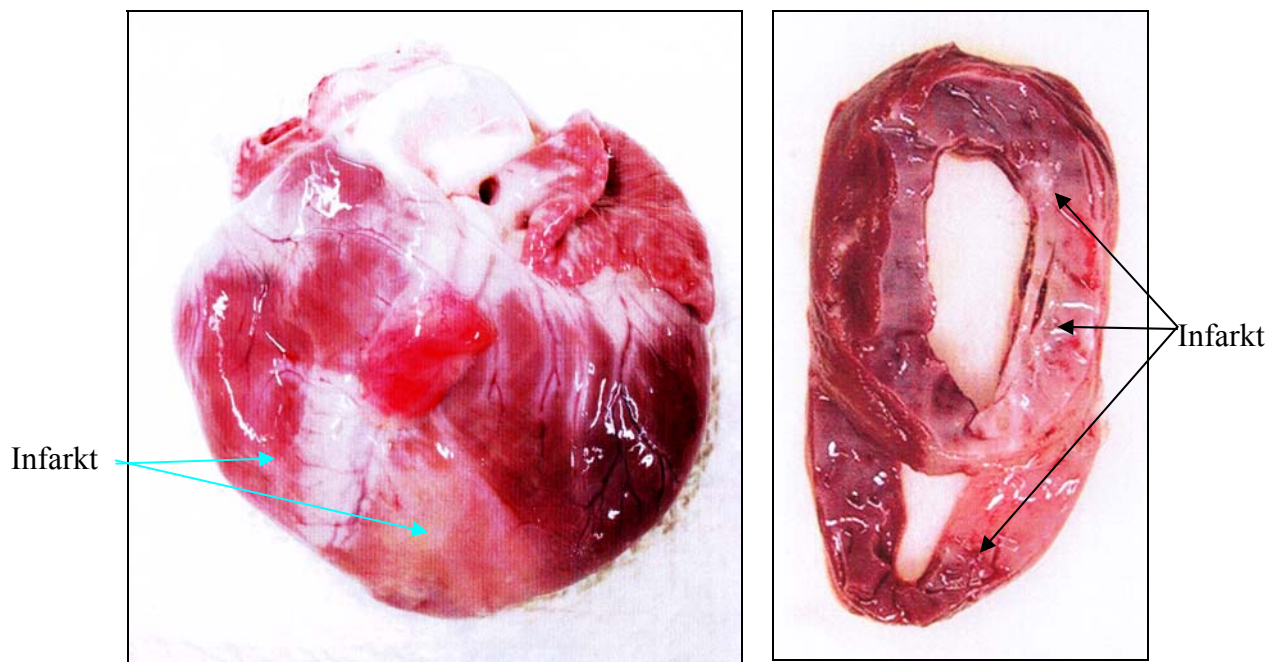


Abb. 15: Herz von Schwein 15 mit einem großen Infarkt im Bereich der Apex cordis (linke Abb.), Versorgungsgebiet der LAD (=linke Koronararterie) und im Bereich der linken, zum Teil auch rechten Herzkammer mit starker Wandverdünnung (rechte Abb.)

Die übrigen 3 Schweine (Nr. 3, 6, 8) zeigen keine makroskopisch sichtbaren Veränderungen am Herzen.

Vorzeitig verstorbene Tiere

Die Sektion des intraoperativ an akutem Herzstillstand nach Kammerflimmern verstorbenen **Versuchstiers Nr. 4** (23192) ergibt keinen Anhalt für pathologisch-anatomische Veränderungen. Auch hinsichtlich der postoperativ verendeten **Schweine Nr. 9 und 13** trägt die Sektion nicht zu einer Klärung der Ursache des vorzeitigen Todes bei. Die Koronargefäße enthalten kein thrombotisches Material, die Stents sind ebenfalls komplett durchgängig.

Im Gegensatz dazu fällt bei der Sektion des am 5. Tag post implantationem verstorbenen **Tiers Nr. 11** ein pathologisch-anatomischer Befund auf: das entnommene Herz weist ein im Durchmesser ca. 2 cm großes, umschriebenes, weißes, speckiges Areal im Bereich der Herzspitze auf. Im Bereich des Ramus collateralis proximalis der LAD weist das Myokard ein 2x2,5x3 cm großes umschriebenes, gelbliches Areal mit einer rötlichen Umrandung auf.

Bei der im Anschluss an die Euthanasie des **Schweines Nr. 14** durchgeführten Sektion fällt eine ca. tennisballgroße, rote, gallertartige, geruchslose Masse am ventralen Hals im Bereich der A. carotis communis auf. Der Brust- und Bauchraum sind unauffällig.

Das Herz des **Schweines Nr. 16** zeigt auf der Facies auricularis eine ca. 7x6x3 cm große lehmgelbe, gegenüber dem umliegenden Gewebe leicht erhabene Region im Verlauf der LAD bis zur Spitze auf. Alle Wandschichten sind von dieser Veränderung betroffen.

3.3.2.2 Histomorphometrische Ergebnisse

Diese Daten werden wie in Kapitel 3.2.3.11.3 beschrieben durch Umfahren der Kollagen- bzw. Myofibroblastenflächen ermittelt und berechnet.

Die gemessene Fläche pro Schnitt wird im Folgenden als absolute Fläche in μm^2 (Tab. 5) und als relative Fläche (%) in Prozent (Tab. 6) dargestellt, d.h. die absolute Fläche wird im Verhältnis zur Gesamtfläche des Schnittes gesetzt.

3.3.2.2.1 Ergebnisse der histomorphometrisch ermittelten Kollagenfläche (EvG-Färbung)

Die histologischen Untersuchungen werden nicht an den Kurzzeittieren Nr. 1, 2 und 3 durchgeführt. Bei diesen Schweinen erfolgt nur eine molekularbiologische Untersuchung, die Gegenstand der Arbeit von PRAUS (in Vorb.) ist.

Bei der relativen Kollagenfläche (%) in Prozent ergibt sich für die Gruppe der Kurzzeitschweine (Nr. 5 und 7) ein Mittelwert von 0,1 (SD 0,1) für die Gruppe der Langzeitschweine (Nr. 6, 8, 10, 12 und 15) ein Mittelwert von 0,06 (SD 0,09). Die Daten der einzelnen Schnitte pro Schwein sind in der Tabelle 6 aufgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen den

internen Kontrollen (linker und rechter Ventrikel, rechter Vorhof, 0,02 %) und den Ergebnissen der relativen Kollagenfläche in den LAD-Regionen (0,12 %) sind in der Gruppe der Langzeitschweine ($p < 0,05$) gegeben (Abb. 16). In der Gruppe der Kurzzeitschweine bestehen keine signifikanten Unterschiede ($p > 0,05$). Jedoch ist in beiden Gruppen auffällig, dass der Kollagengehalt in den LAD-Regionen erhöht ist ($0,11 \pm 0,12$ v.s. $0,04 \pm 0,05$) (siehe Abb. 17).

Die absolute Kollagenfläche beider Gruppen ist in Tab. 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Absolute Kollagenfläche (μm^2) der einzelnen Schnitte

	LV (Kontrolle) (μm^2)	LAD („fasted“ mismatch) (μm^2)	LAD („post insulin“ mismatch) (μm^2)	LAD (match) (μm^2)	RV (Kontrolle) (μm^2)	RA (Kontrolle) (μm^2)
Schwein 5	637.950,65	1.154.100,60	1.202.041,57	88.233,54	511.380,31	--
Schwein 7	315.640,06	16.230.457,73	33.261.088,56	3.230.395,06	1.423.126,31	--
Schwein 6	0,00	2.464.803,29	108.744,02	284.582,46	941.506,96	--
Schwein 8	7.199.128,75	4.515.590,95	8.190.172,23	--	1.103.015,45	1.538.017,51
Schwein 10	769.185,05	10.623.166,29	--	0,00	135.071,87	1.045.241,42
Schwein 12	493.563,95	748.874,94	1.383.403,36	10.113.054,94	300.882,09	1.571.269,87
Schwein 15	220.815,83	13.739.161,01	--	17.755.442,53	3.220.551,41	1.349.351,90

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP
 Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP
 -- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ^{18}FDG -Aufnahme, verminderte Durchblutung (Hibernation),

match = keine erhöhte ^{18}FDG -Aufnahme, normale Durchblutung

Tabelle 6: Relative Kollagenfläche (%) der einzelnen Schnitte

	LV (Kontrolle) (%)	LAD („fasted“ mismatch) (%)	LAD („post insulin“ mismatch) (%)	LAD (match) (%)	RV (Kontrolle) (%)	RA (Kontrolle) (%)
Schwein 5	5,32	3,61	10,02	1,10	3,20	--
Schwein 7	0,38	15,03	31,98	20,19	3,23	--
Schwein 6	0,00	2,37	0,16	0,79	1,24	--
Schwein 8	3,53	7,06	12,04	--	1,97	0,77
Schwein 10	0,80	17,71	--	0,00	0,24	1,63
Schwein 12	0,56	0,81	0,96	5,75	0,42	1,46
Schwein 15	0,35	28,62	--	34,15	5,37	1,16

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP
 Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP
 -- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, verminderte Durchblutung (Hibernation),

match = keine erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, normale Durchblutung

RELATIVE KOLLAGENFLÄCHE (%) 28 TAGE POST OP

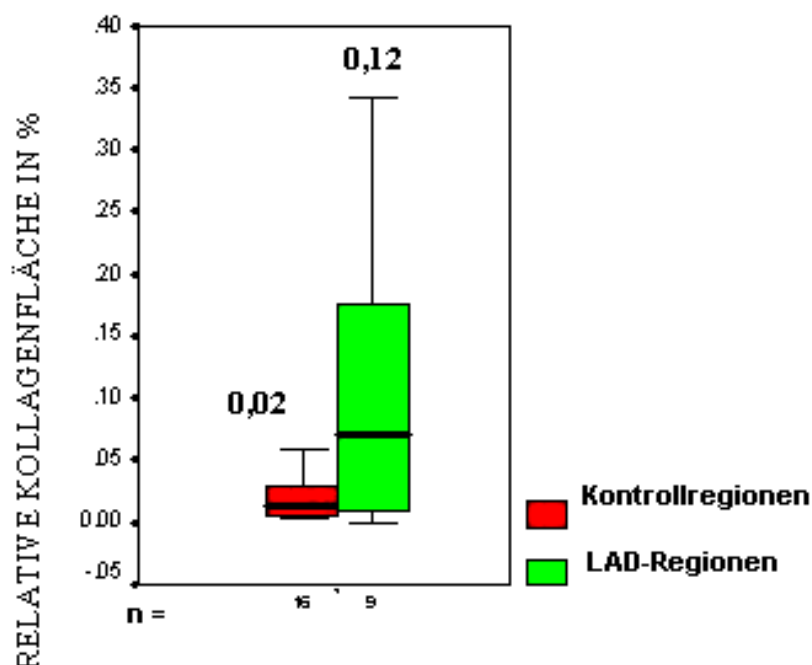


Abb. 16: Relative Kollagenfläche (%) 28 Tage post OP in den LAD- und Kontrollregionen

n = Anzahl der Proben der Langzeittiere (28 Tage post OP)

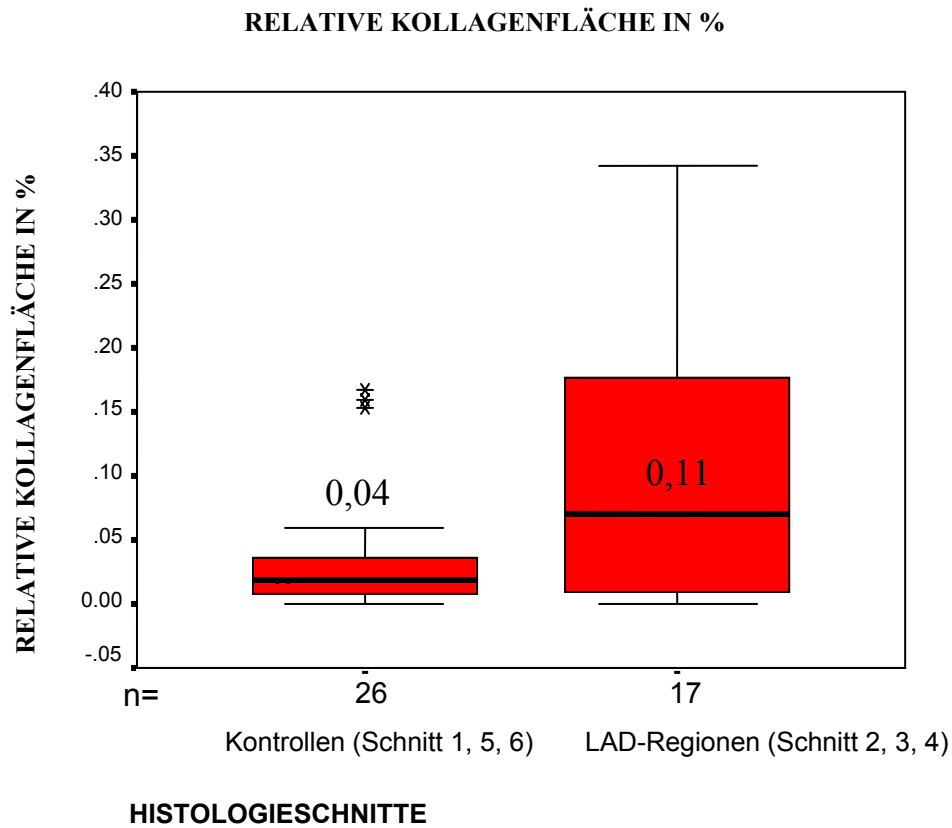


Abb. 17: relative Kollagenfläche (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen

n = Anzahl aller Proben (n = 43) und aller Schweine (Nr. 5, 6, 7, 8, 10, 12 und 15)

In dem Gebiet der LAD (n =17) beträgt die durchschnittliche relative Kollagenfläche aller Proben 0,112 % (SD 0,117), bei den Kontrollproben (n =26) 0,037 % (SD 0,048). Es besteht eine Tendenz zum signifikanten Unterschied zwischen den Kontrollproben und den Proben aus den LAD-Regionen (p = 0,061) hinsichtlich des relativen Kollagenflächenanteils (siehe Abb. 17).

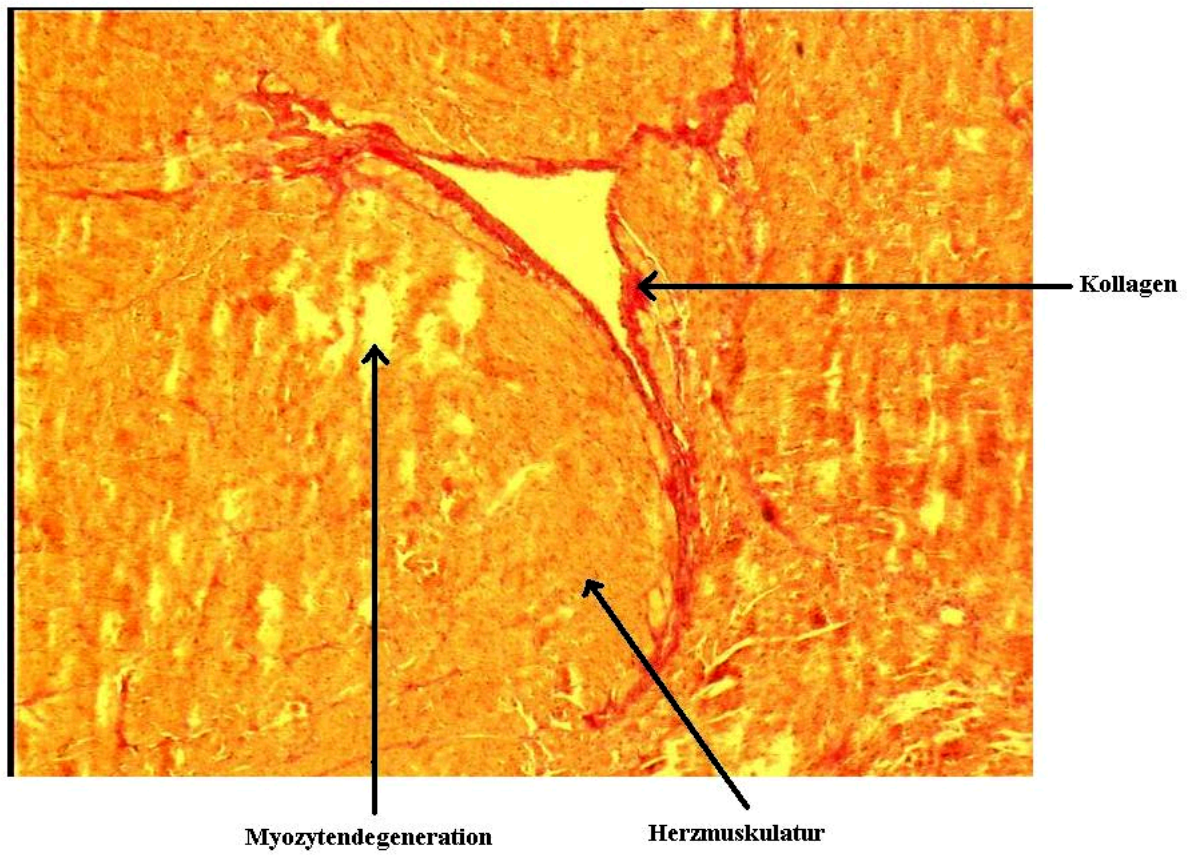


Abb. 18: Schwein 6, rechter Ventrikel, EvG-Färbung, 2,5x

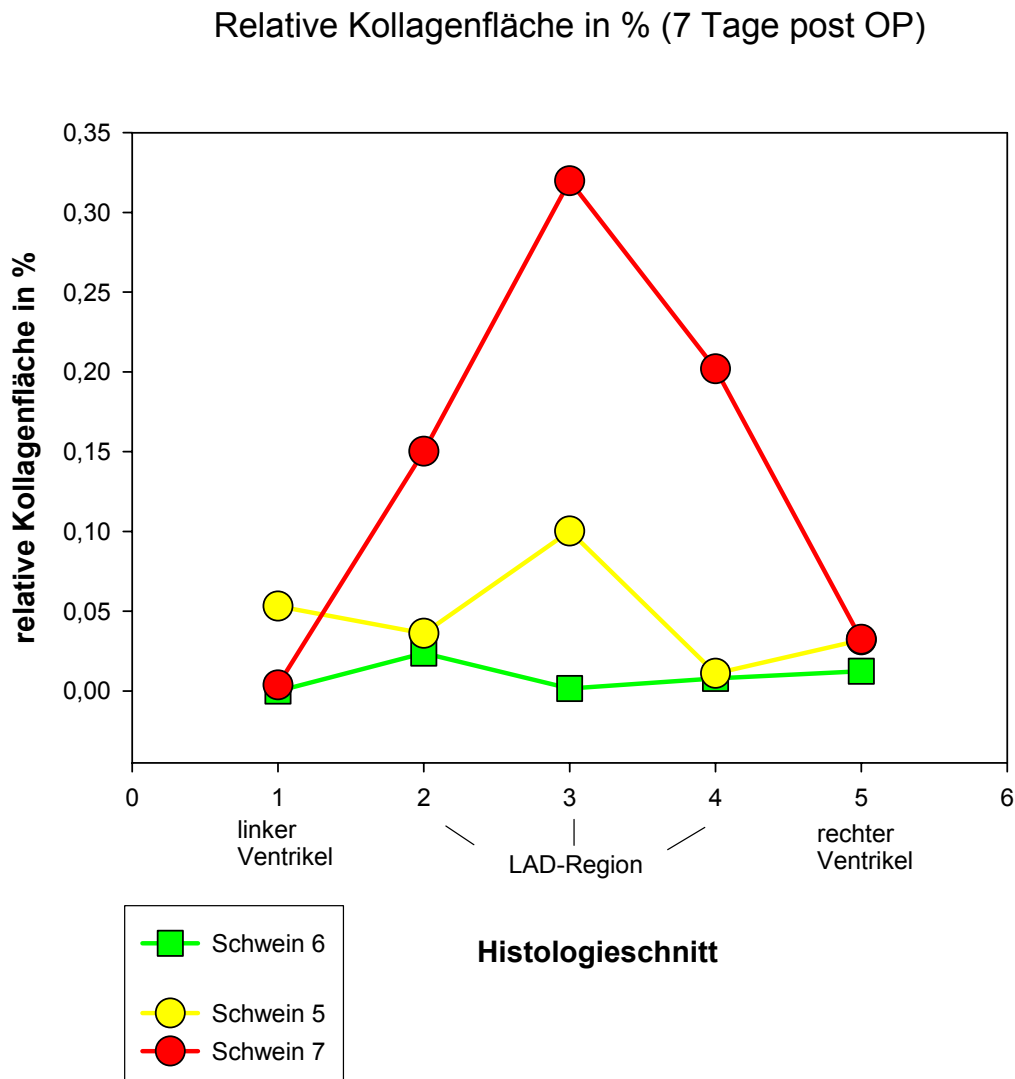


Abb. 19: Relative Kollagenfläche (%) 7 Tage post OP

Nach der PET-Messung zeigen die Proben 2 und 3 von Schwein 5 ein „mismatch“ (verminderte Durchblutung bei erhöhter ^{18}F FDG-Aufnahme). Ein Infarkt im Bereich des LAD-Versorgungsgebiet und ein vermehrter Kollagengehalt (10,02 %) liegen in dieser Region vor (Schnitt 3, Abb. 19)

Das Herz von Schwein 7 hat einen großen Infarktbezirk, der sich bis in das Septum ausbreitet (Abb. 13 und 14). In den LAD-Versorgungsregionen ist der Kollagengehalt stark erhöht (Schnitt 2: 15,028%, Schnitt 3: 31,982%, Schnitt 4: 20,190%) (Abb. 19).

Das Schwein 6 zeigt keine makroskopischen Veränderungen. Im PET wird eine normale Durchblutung sowie ein normaler Stoffwechsel trotz einer angiographisch gemessenen 90 % Stenose der LAD. Es liegt kein vermehrter Kollagengehalt in allen histologischen Proben vor (Abb. 19).

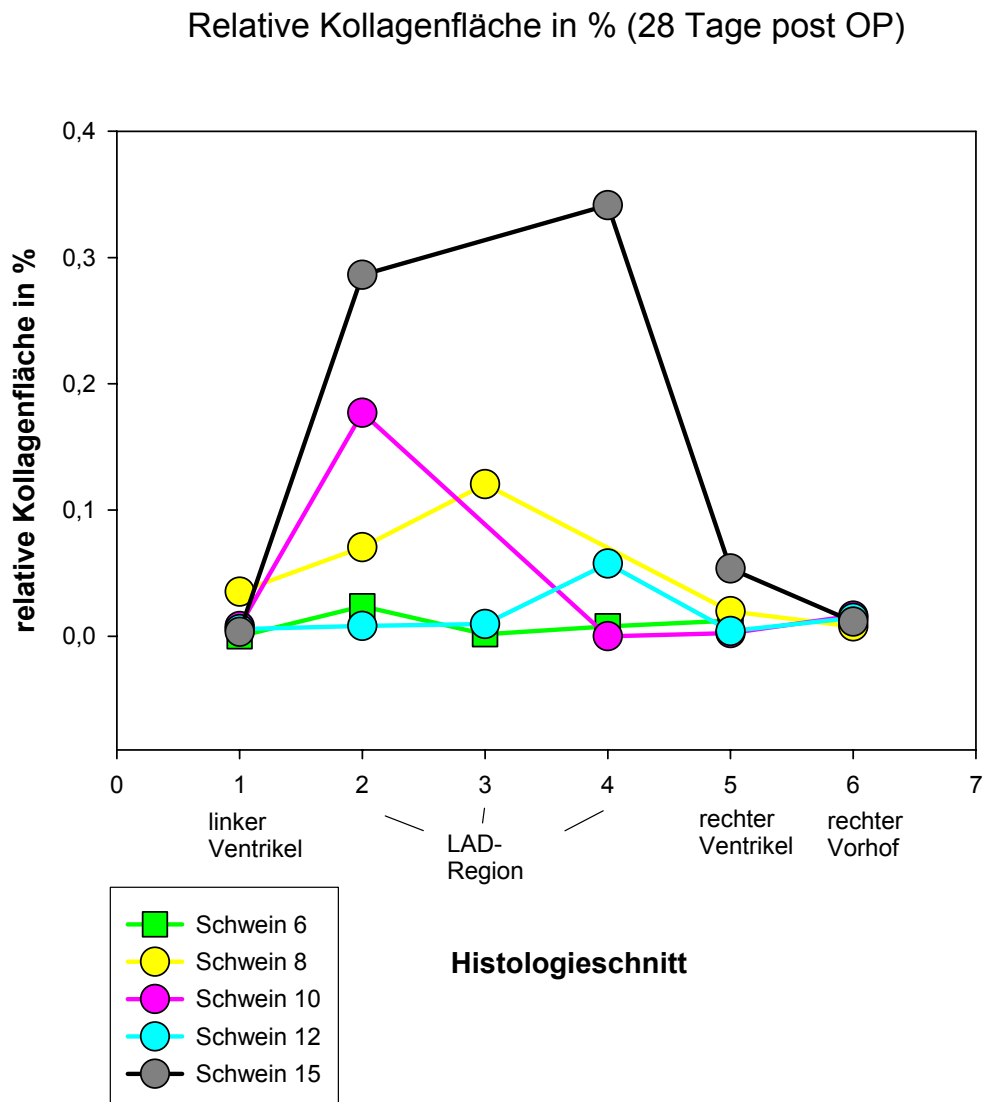


Abb. 20: Relative Kollagenfläche (%) 28 Tage post OP

Schwein 8 zeigt im Bereich der LAD-Region (Schnitt 2 und 3, Abb. 20) eine geringgradige Erhöhung des Kollagengehaltes (Schnitt 2: 7,056%, Schnitt 3: 12,044%). Es ist makroskopisch kein Infarkt zu erkennen.

Der Stent hat bei Schwein 10 zu einem fast vollständigen Verschluss der LAD geführt. In Schnitt 2 (LAD) liegt ein erhöhter Kollagengehalt (17,705%) vor. In Histologieschnitt 4 (LAD match = keine vermehrte ¹⁸FDG-Aufnahme und normale Perfusion) liegt keine Erhöhung des Kollagengehaltes vor.

Die LAD von Schwein 12 zeigt ebenfalls einen fast vollständigen Verschluss. Eine geringgradige Vermehrung des Kollagengehaltes (Schnitt 2: 0,814%, Schnitt 3: 0,961%, Schnitt 4: 5,746%) wird in den LAD-Regionen beobachtet. Bei Schwein 15 fällt der sehr große, makroskopisch sichtbare Infarkt mit einer Wandverdünnung (Abb. 15) auf und eine hoch-

gradige Kollagenvermehrung (28,623%, 34,145%) in den LAD-Regionen kann bei diesem Tier gemessen werden (Abb. 20).

Tabelle 7: Histomorphometrisch ermittelte Kollagenfläche (in %) im LV (Kontrollschnitt) und Werte der Messung der Wandbewegung (Count Increase in %) in der LCX (Kontrollmessung) im PET

	Kollagenfläche in %: LV (Kontrolle)	PET-Messung der Wandbewegung (Count Increase in %): LCX (Kontrolle)
Schwein 5	5,32	24,7
Schwein 7	0,38	21,1
Schwein 6	0,00	30,8
Schwein 8	3,53	31,4
Schwein 10	0,80	32,1
Schwein 12	0,56	34,2
Schwein 15	0,35	26,4

LV = linker Ventrikel,

LCX = R. circumflexus der A. coronaria sinistra (left circumflex coronary artery),

PET = Positronen-Emissions-Tomographie,

Count Increase = Wandbewegung, gemessen in PET anhand der Signalintensität des Tracers (NH³) in Systole und Diastole (Wanddicke)

Eine Wandbewegungsstörung liegt vor, wenn im PET ein Count Increase von < 20 % gemessen wird.

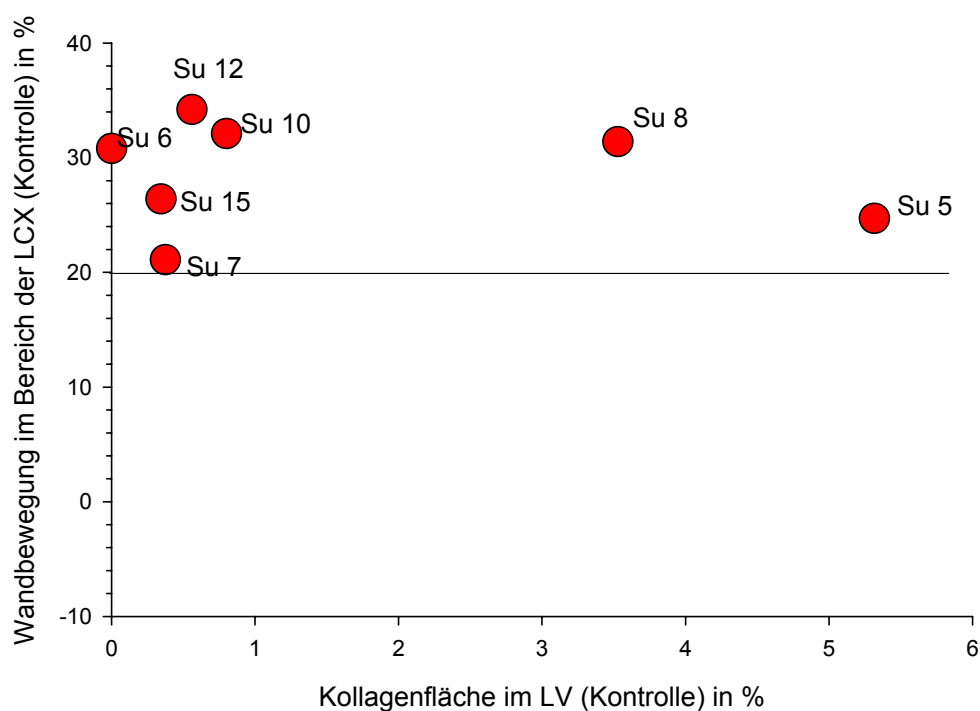


Abb. 21: Graphische Darstellung der Korrelation Kollagengehalt (im histologischen Präparat) zur Wandbewegung (gemessen in PET) in den Kontrollregionen, eine Wandbewegungsstörung liegt bei < 20 % vor (schwarze Linie)

In Abb. 21 wird dargestellt, dass in der Kontrollregion (LCX) keine Wandbewegungsstörungen im PET gemessen werden können und der Kollagengehalt in den Kontrollbiopsien (LV) kaum erhöht ist ($< 6\%$). Die Graphik zeigt, dass bei einem niedrigen Kollagengehalt keine Wandbewegungsstörungen vorliegen.

Tabelle 8: Histomorphometrisch ermittelte Kollagenfläche (in %) in der LAD (mismatch-Schnitt) und Werte der Messung der Wandbewegung (Count Increase in %) in der LAD im PET

	Kollagenfläche in %: LAD (mismatch = Hibernation)	PET-Messung im Bereich der LAD (Count Increase in %)
Schwein 5	10,02	3,8
Schwein 7	31,98	-7,6
Schwein 6	2,37	24,2
Schwein 8	12,04	13,3
Schwein 10	17,70	21,9
Schwein 12	0,96	14,4
Schwein 15	28,62	2,8

LAD = R. interventricularis paraconalis der A. coronaria sinistra (left anterior descending coronary artery),
mismatch = erhöhte ^{18}F FDG-Aufnahme, verminderte Durchblutung (Hibernation) ,
PET = Positronen-Emissions-Tomographie,
Count Increase = Wandbewegung, gemessen im PET anhand der Signalintensität des Tracers (NH_3) in
Systole und Diastole (Wanddicke)

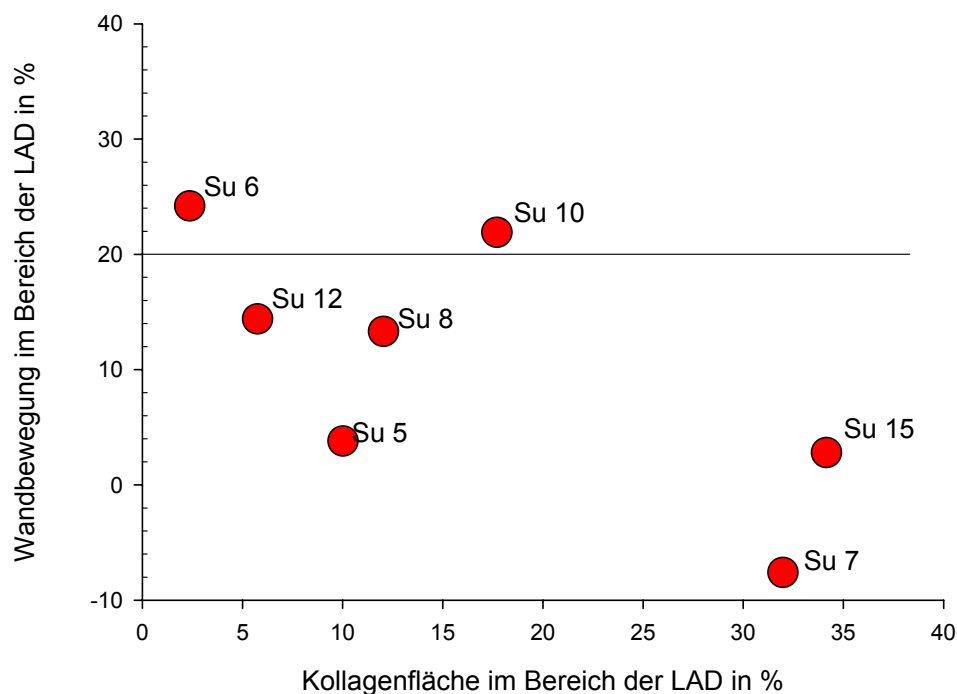


Abb. 22: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen Kollagengehalt (im histologischen Präparat) und Wandbewegung (gemessen in PET) in den LAD-Regionen, eine Wandbewegungsstörung liegt bei $< 20\%$ vor (schwarze Linie)

In der LAD-Region liegt bei nahezu allen Schweinen, außer bei Schwein 10 und 6, in PET eine Wandbewegungsstörung (< 20 %, siehe Abb. 22) vor und der Kollagengehalt ist in dieser Region, zum Teil stark (Schwein 7 und 15), erhöht (> 6 %) (Abb. 22). Schwein 6 zeigt, trotz einer Stenose im Bereich der LAD, weder im PET, noch nach der makroskopischen und histologischen Untersuchung Veränderungen.

3.3.2.2.2 Ergebnisse der Myofibroblastenflächenmessung (SMA-Färbung)

Die Ergebnisse zum Nachweis glatter Muskelzellen, die Aktin exprimieren, sind in Tab.9 (absolute Myofibroblastenfläche in μm^2) und Tab. 10 (relative Myofibroblastenfläche in %) aufgeführt. Bei der relativen Myofibroblastenfläche (%) ergibt sich in den LAD-Regionen aller Schweine (Nr. 5, 6, 7, 8, 10, 12 und 15) ein Mittelwert von 0,01 % (SD 0,01) und in den Kontrollregionen ein Mittelwert von 0,003 % (SD 0,003). Der Myofibroblastengehalt (%) bei den Langzeittieren (Nr. 6, 8, 10, 12 und 15) in den LAD-Regionen beträgt 0,006 % (SD 0,008) und in den Kontrollregionen dieser Tiere 0,003 % (SD 0,004). Die Myofibroblastendichte liegt bei der Gruppe der Kurzzeittiere (Nr. 5 und 7) in den LAD-Regionen bei 0,02 % (SD 0,02) und in den Kontrollregionen bei 0,005 % (SD 0,002). Es bestehen keine signifikanten Unterschiede in den Ergebnissen zwischen LAD- und Kontrollregionen beider Gruppen ($p \geq 0,10$). Der Myofibroblastengehalt der Proben aus dem LAD-Gebiet ist im Vergleich zu den Kontrollregionen erhöht ($0,01 \pm 0,01$ v.s. $0,003 \pm 0,003$) (siehe Abb. 23).

Tabelle 9: Absolute Myofibroblastenfläche (μm^2) der einzelnen Schnitte

	LV (Kontrolle) (μm^2)	LAD („fasted“ mismatch) (μm^2)	LAD („postinsulin“ mismatch) (μm^2)	LAD (match) (μm^2)	RV (Kontrolle) (μm^2)	RA (Kontrolle) (μm^2)
Schwein 5	82.451,92	0	373.998,43	36.455,89	14.762,96	--
Schwein 7	533.517,24	5.246.545,01	1.718.204,23	90.603,38	13.4316,6	--
Schwein 6	0	492.680,89	310.386,47	120.313,92	275.811,49	--
Schwein 8	0	12.956,88	120.663,15	--	32.205,12	181.067,08
Schwein 10	42.487,80	331.745,09	--	18.335,21	220.745,98	338.814,78
Schwein 12	654.689,33	0	491.794,95	373.255,03	824.964,83	35.443,09
Schwein 15	0	801.517,33	--	1.209.767,80	449.414,77	64.559,90

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP
 Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP
 -- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ^{18}FDG -Aufnahme, verminderte Durchblutung (Hibernation),

match = keine erhöhte ^{18}FDG -Aufnahme, normale Durchblutung

Tabelle 10: Relative Myofibroblastenfläche (%) der einzelnen Schnitte

	LV (Kontrolle) (%)	LAD („fasted“ mismatch) (%)	LAD („postinsulin“ mismatch) (%)	LAD (match) (%)	RV (Kontrolle) (%)	RA (Kontrolle) (%)
Schwein 5	0,69	0,00	3,12	0,46	0,09	--
Schwein 7	0,64	4,86	1,65	0,76	0,31	--
Schwein 6	0,00	0,47	0,46	0,33	0,36	--
Schwein 8	0,00	0,02	0,18	--	0,06	0,09
Schwein 10	0,04	0,55	--	0,04	0,39	0,53
Schwein 12	0,74	0,00	0,34	0,21	1,15	0,03
Schwein 15	0,00	1,67	--	2,33	0,75	0,06

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP
 Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP
 -- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

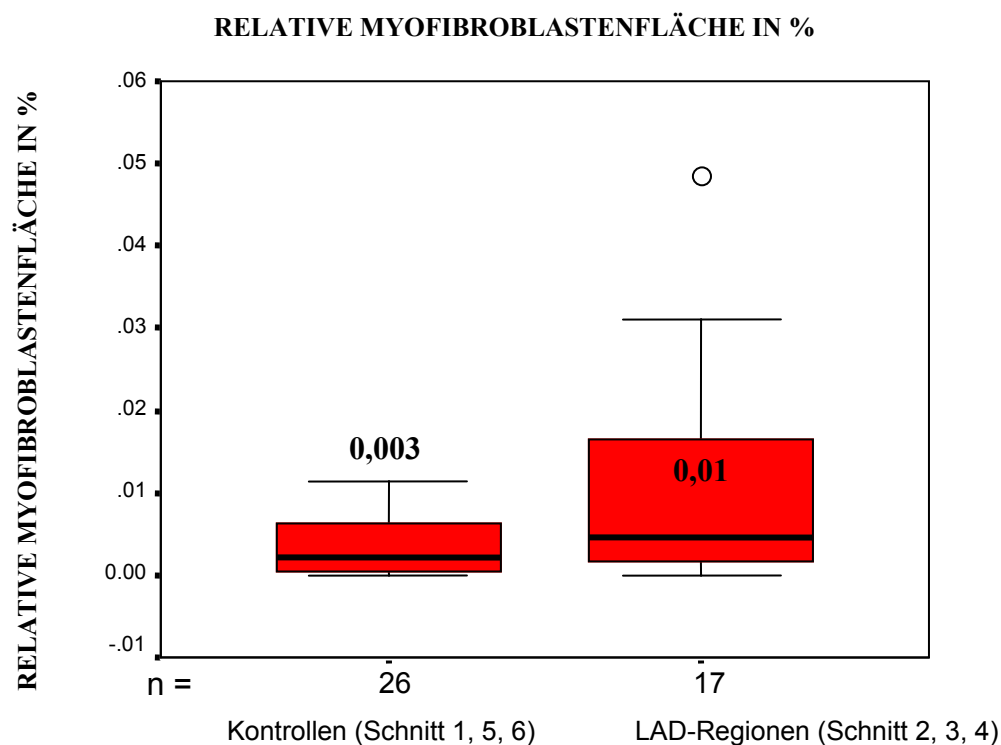
RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, verminderte Durchblutung (Hibernation),

match = keine erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, normale Durchblutung



HISTOLOGIESCHNITTE

Abb. 23: Relative Myofibroblastenfläche (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen

n = Anzahl aller Proben (n = 43) und aller Schweine (Nr. 5, 6, 7, 8, 10, 12 und 15)

Die durchschnittliche relative Myofibroblastenfläche aller Proben und Schweine in dem Gebiet der LAD (n = 17) beträgt 0,01 % (SD 0,013) und aus den Kontrollproben (n = 26) 0,003 % (SD 0,003). Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Proben-
gruppen ($p \geq 0,10$) (siehe Abb. 23).

Relativer Myofibroblastengehalt in % (7 Tage post OP)

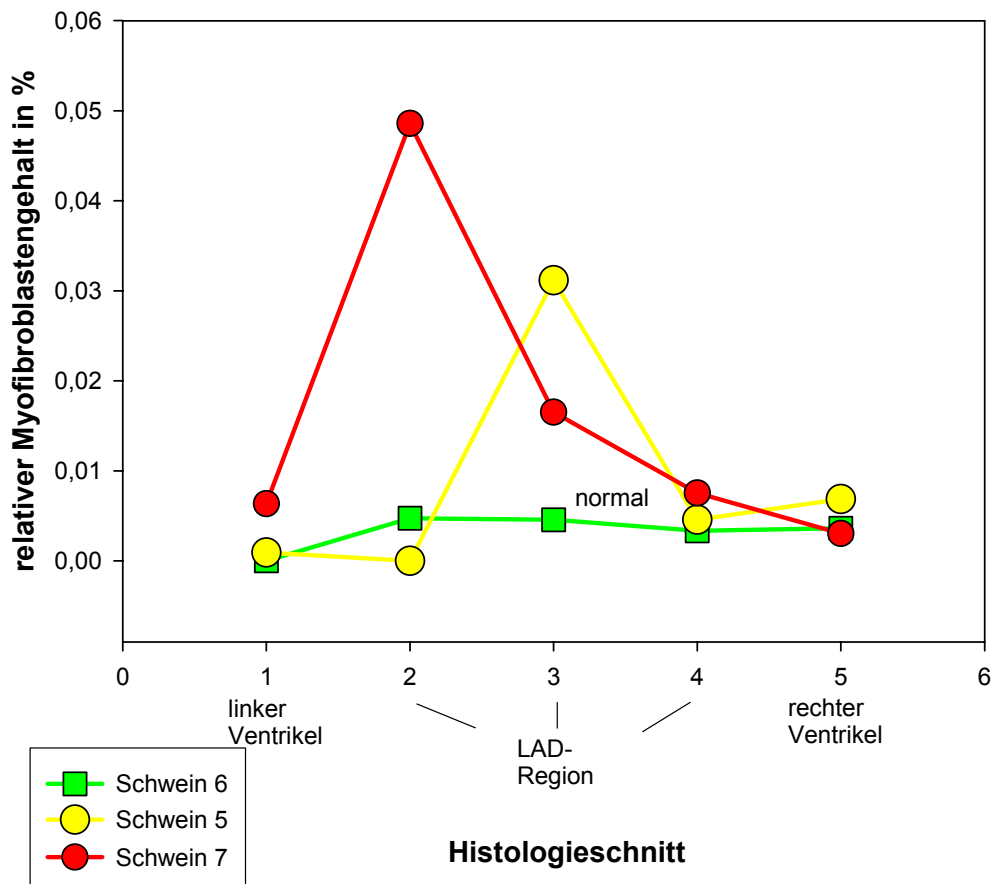


Abb. 24: Relative Myofibroblastenfläche (%) 7 Tage post OP

Die Schweine Nr. 5 und 7 zeigen im Vergleich zu Schwein 6 einen erhöhten Myofibroblasten-
gehalt im Bereich der LAD-Regionen (Schnitt 3 von Nr. 5: 3,117%, Schnitt 2 von Nr. 7:
4,858 %) (Abb. 24)

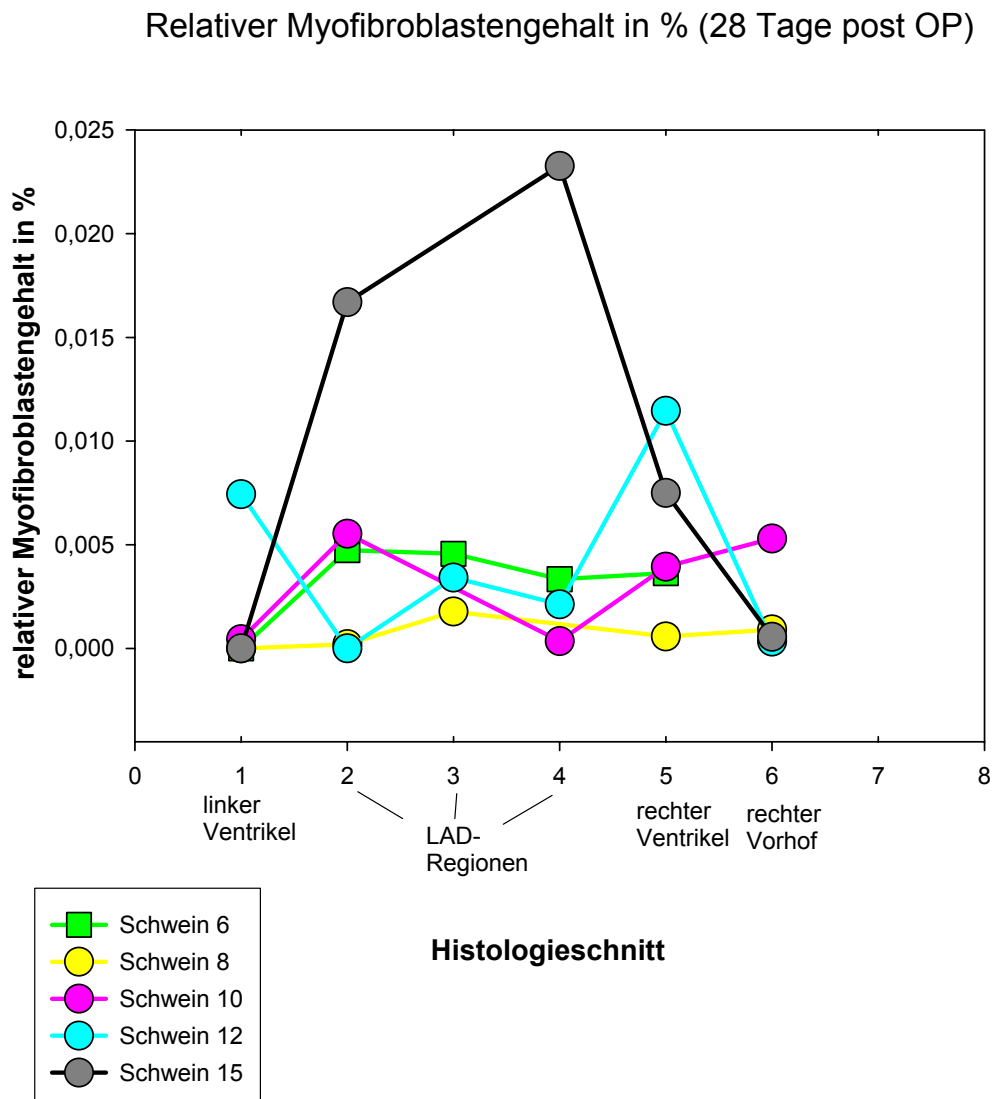


Abb. 25: Relative Myofibroblastenfläche (%) 28 Tage post OP

In der Abb. 25 zeigt Schwein 8 im LAD-Bereich (Schnitt 3) eine geringgradige Gefäßneubildung (0,177 %). Bei Schwein 10 liegt in Schnitt 2 (LAD-Region) die Gefäßneubildung bei 0,553 %, hingegen liegt der Wert der Myofibroblastenfläche in Schnitt 4 (LAD match) nur bei 0,035 %. Es fällt eine vermehrte Gefäßneubildung in den Schnitten 3 und 4 (0,342%, 0,21%) und im rechten Ventrikel (Schnitt 5: 1,146) von Schwein 12 auf. In allen entnommenen Proben (exkl. Schnitt 1 und 6) von Schwein 15 kann im Vergleich zu den anderen Schweinen erhöhte Werte gemessen werden. Eine besonders starke Gefäßneubildung ist in den LAD-Regionen zu beobachten (1,670 % und 2,326 %).

3.3.2.3 Ergebnisse der glykogenhaltigen Zellen (PAS-Färbung)

Ein weiterer histologischer Diagnoseparameter des hibernierenden Myokards ist der erhöhte Glykogengehalt der Zellen. Die PAS-positiven Zellen werden im Verhältnis zur Gesamtzahl der Myozyten pro Schnitt gesetzt (angegeben in Prozent). In den LAD-Regionen beträgt der Mittelwert 0,06 % (SD 0,04) und in den Kontrollregionen 0,02 % (SD 0,04). In der Gruppe der Langzeitschweine besteht ein signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zwischen den LAD- und Kontrollregionen (0,05 v.s. 0,005) (Abb. 26), im Gegensatz zur Gruppe der Kurzzeitschweine (0,1 v.s. 0,06), in der kein signifikanter Unterschied ($p \geq 0,10$) besteht. In beiden Gruppen ist auffällig, dass ein erhöhter Glykogengehalt (0,06 %) in den ischämischen Regionen im Bereich der LAD im Vergleich zu den Kontrollregionen (0,02 %) (siehe Abb. 27) vorliegt. Die Glykogengehalte der Zellen der beiden Gruppen sind in Tab. 11 aufgeführt und in Abb. 27 graphisch dargestellt.

Tabelle 11: Glykogenhaltige Zellen (%)

	LV (Kontrolle) (%)	LAD („fasted“ mismatch) (%)	LAD („postinsulin“ mismatch) (%)	LAD (match) (%)	RV (Kontrolle) (%)	RA (Kontrolle) (%)
Schwein 5	3,40	15,70	6,20	8,20	6,40	--
Schwein 7	17,00	10,50	6,80	9,80	0,00	--
Schwein 6	0,00	0,00	0,00	0,50	0,70	--
Schwein 8	0,00	5,90	4,10	--	0,00	1,20
Schwein 10	2,00	4,50	--	0,00	0,80	0,80
Schwein 12	0,80	5,70	7,50	10,00	0,00	0,00
Schwein 15	0,00	9,40	--	5,20	0,60	0,00

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP
 Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP
 -- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, verminderte Durchblutung,

match = keine erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, normale Durchblutung

GLYKOGENHALTIGE ZELLEN (%) 28 TAGE POST OP

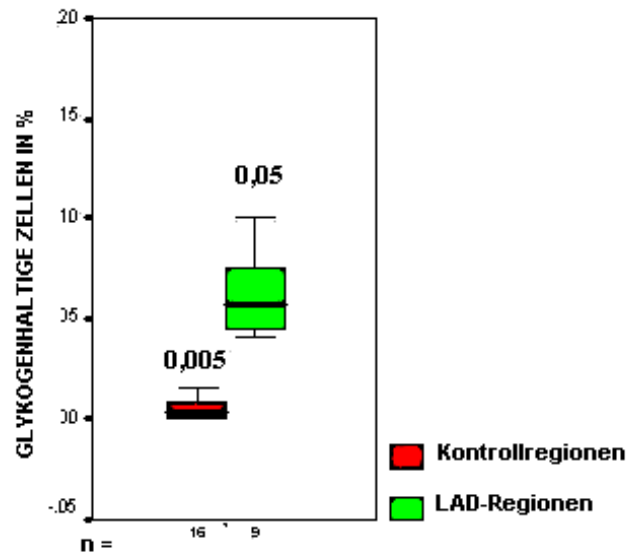


Abb. 26: Glykogenhaltige Zellen (%) 28 Tage post OP in den LAD- und Kontrollregionen

n = Anzahl der Proben der Langzeittiere (28 Tage post OP)

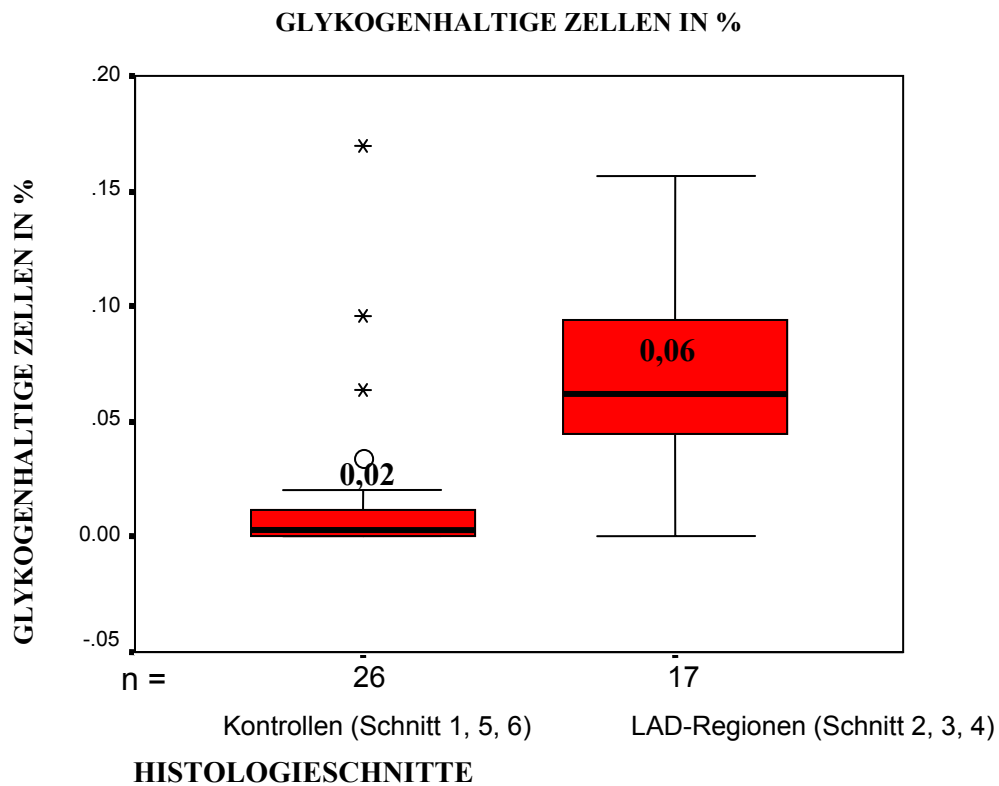


Abb. 27: Glykogenhaltige Zellen (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen

n = Anzahl aller Proben (n = 43) und aller Schweine (Nr. 5, 6, 7, 8, 10, 12 und 15)

Der Glykogengehalt aller Proben aus dem Gebiet der LAD (n = 17) beträgt 0,06 % (SD 0,041) und im Bereich der Kontrollregionen (n = 26) 0,02 % (SD 0,038). Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Proben ($p < 0,05$) (siehe Abb. 27)

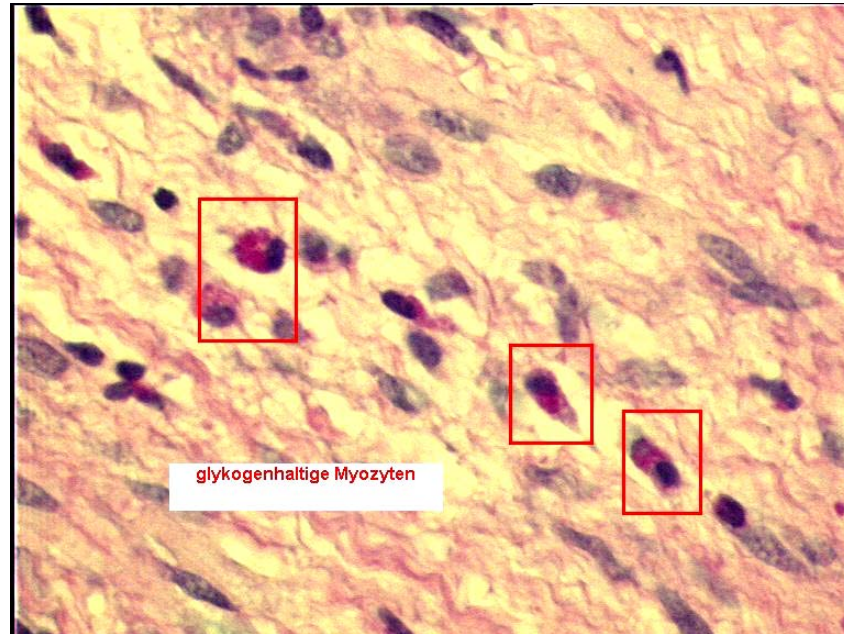


Abb. 28: Schwein 8, LAD-Region (mismatch), PAS-Färbung, 40x
Glykogenhaltige Zellen rot dargestellt

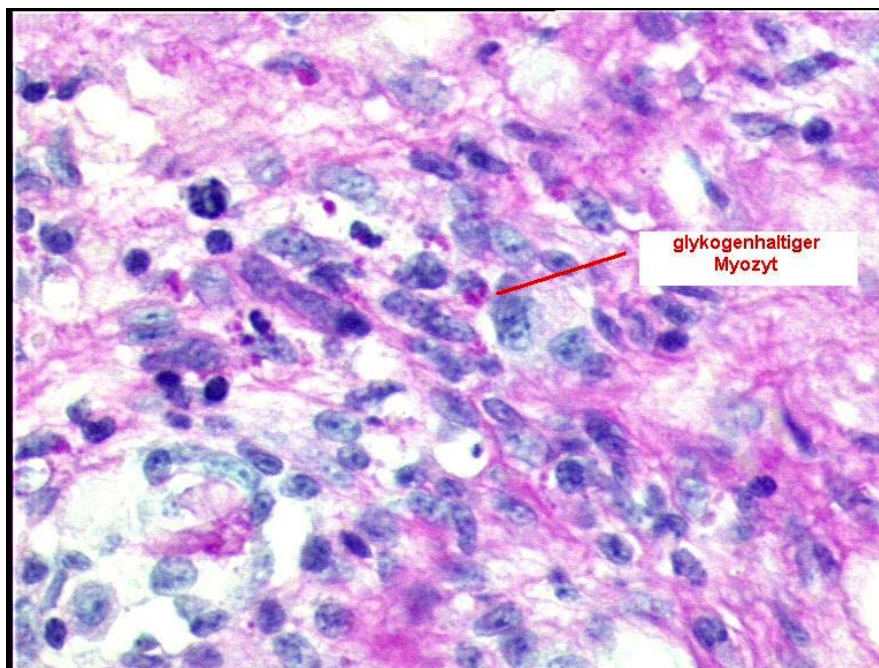


Abb. 29: Schwein 12, LAD-Region („post insulin“ mismatch), PAS-Färbung, 40x

Glykogenhaltige Zellen in % (7 Tage post OP)

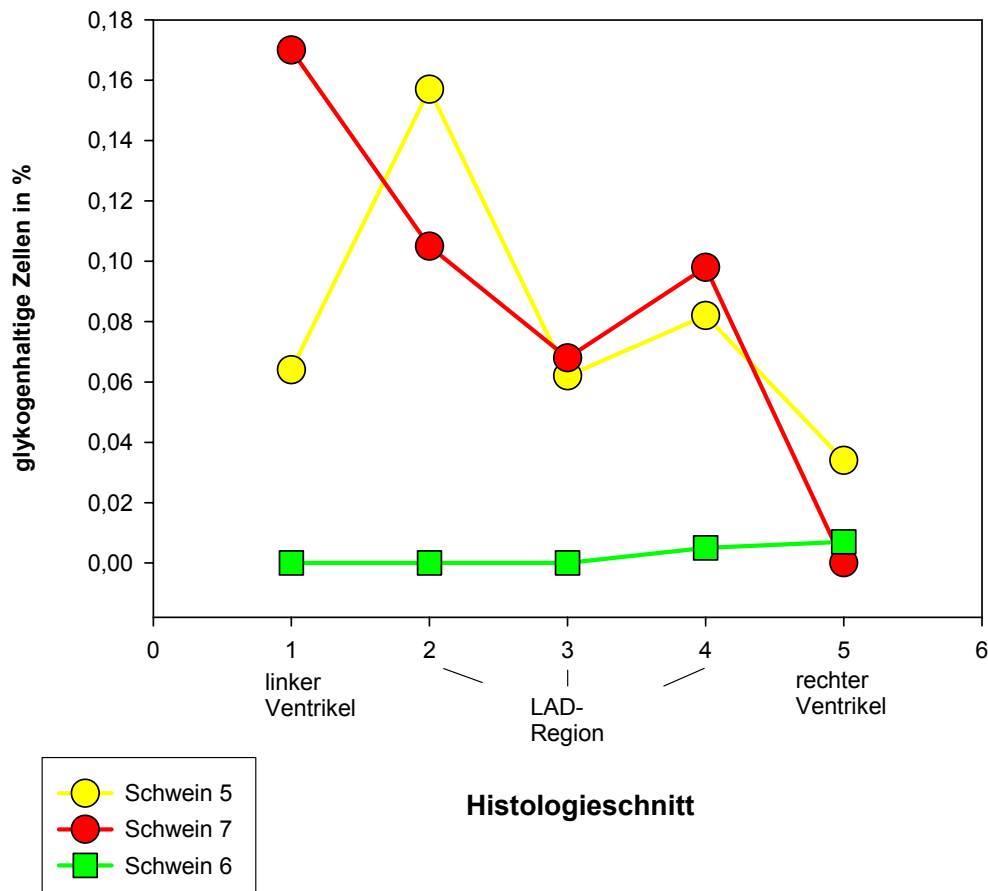


Abb. 30: Glykogenhaltige Zellen (%) 7 Tage post OP

Bei den Kurzzeitschweinen ist in den LAD versorgenden Regionen der Glykogengehalt erhöht. Schwein Nr. 5 zeigt diese Erhöhung in den Schnitten 2 (15,7 %), 3 (6,2 %) und 4 (8,2 %), wobei die Kontrollprobe (Schnitt 1) ebenfalls vermehrte Zellen mit Glykogenansammlungen (6,4 %) enthält. In den LAD-Proben (Schnitt 2, 3, 4) von Schwein 7 färben sich 10,5 %, 6,8 % und 9,8 % der Zellen positiv für Glykogen. Schwein 6 zeigt in allen Schnitten kaum glykogenhaltige Zellen (Abb. 30).

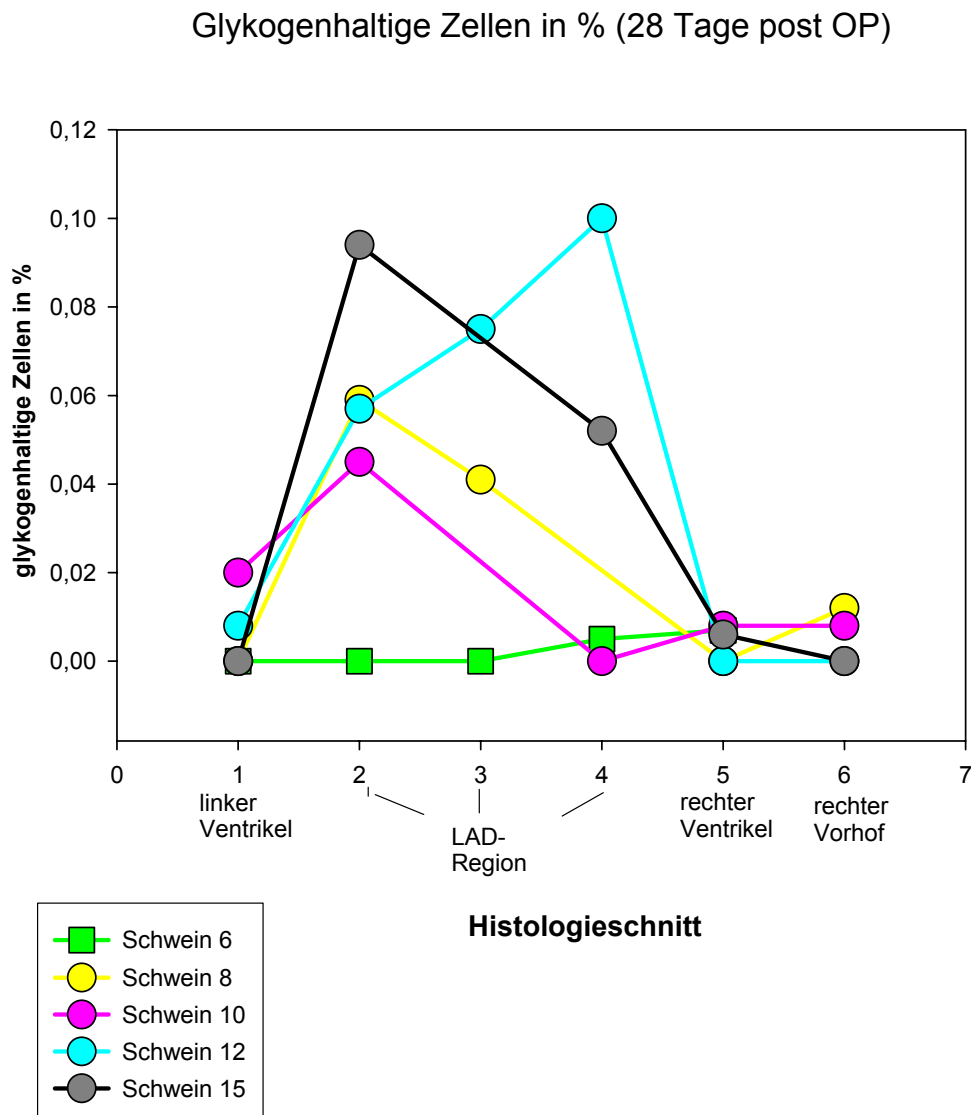


Abb. 31: Glykogenhaltige Zellen (%) 28 Tage post OP

Wie in Abb. 31 graphisch dargestellt ist der Glykogengehalt bei Schwein 8 in den LAD-Proben (Schnitt 2 und 3) (Abb. 28, Seite 63) erhöht (5,90 % und 4,10 %). Schweine Nr. 12 (Abb. 29, Seite 63) (5,70 %, 7,5 % und 10,0 %) und 15 (9,40 %, 5,20 %) zeigen ebenfalls in den ischämischen Regionen (LAD) eine vermehrte intrazelluläre Glykogenansammlung. Bei Schwein 10 ist der Glykogengehalt in Schnitt 4 (LAD match) nicht erhöht und liegt in Schnitt 2 (LAD mismatch) bei 4,50 %.

3.3.2.4 Ergebnisse des T-Zellengehaltes (CD 3- Färbung)

Zur Bestimmung des Gehalts von Entzündungszellen wird der CD 3 Antikörper als hochspezifischer Marker von T-Zellen eingesetzt. Es werden die CD 3 positiven Zellen pro mm² gezählt. Die Ergebnisse aller Schnitte und Schwein sind in Tab. 12 dargestellt

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 12: T-Zellzahl/ mm²

	LV (Kontrolle) (Zellzahl/mm ²)	LAD („fasted“ mismatch) (Zellzahl/mm ²)	LAD („postinsulin“ mismatch) (Zellzahl/mm ²)	LAD (match) (Zellzahl/mm ²)	RV (Kontrolle) (Zellzahl/mm ²)	RA (Kontrolle) (Zellzahl/mm ²)
Schwein 5	13,74	6,31	58,97	38,22	4,52	--
Schwein 7	19,36	36,94	45,71	16,76	10,08	--
Schwein 6	0,83	3,08	3,60	2,23	4,63	--
Schwein 8	9,22	48,24	17,24	--	1,22	21,01
Schwein 10	8,57	15,83	--	11,66	2,71	23,57
Schwein 12	20,04	36,76	29,97	23,98	9,77	3,79
Schwein 15	2,52	81,35	--	76,82	11,80	16,04

Schwein 5, 7: 7 Tage post OP

Schwein 6, 8, 10, 12, 15: 28 Tage post OP

-- nicht bestimmt

LV = linker Ventrikel,

LAD = left anterior descending coronary artery (linke Koronararterie),

RV = rechter Ventrikel,

RA = rechter Vorhof,

„fasted“ = nüchtern, d.h. ohne Glukose- und Insulinapplikation (intravenös),

„post insulin“ = nach Glukose- und Insulinapplikation (intravenös) zur Darstellung des gesamten vitalen Gewebes,

mismatch = erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, verminderte Durchblutung,

match = keine erhöhte ¹⁸FDG-Aufnahme, normale Durchblutung

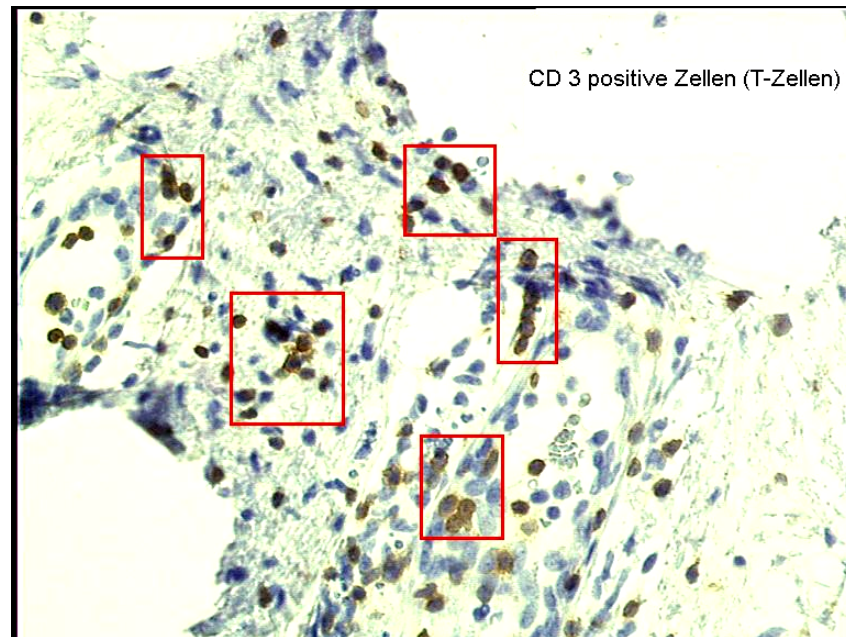


Abb. 32: Schwein 15, rechter Ventrikel, CD 3- Färbung, 20x

T-Zellen stellen sich braun dar (rote Kästchen)

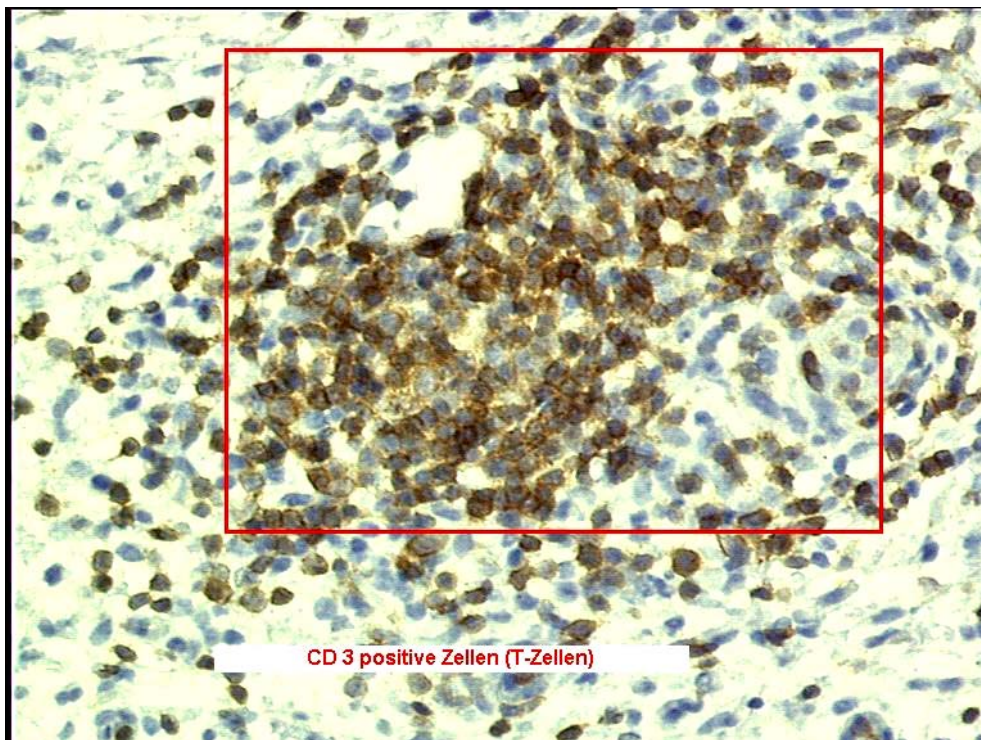


Abb. 33: Schwein 15, CD 3- Färbung, 20x

Massive Ansammlung von Entzündungszellen (T-Zellen) in der LAD-Region (match),

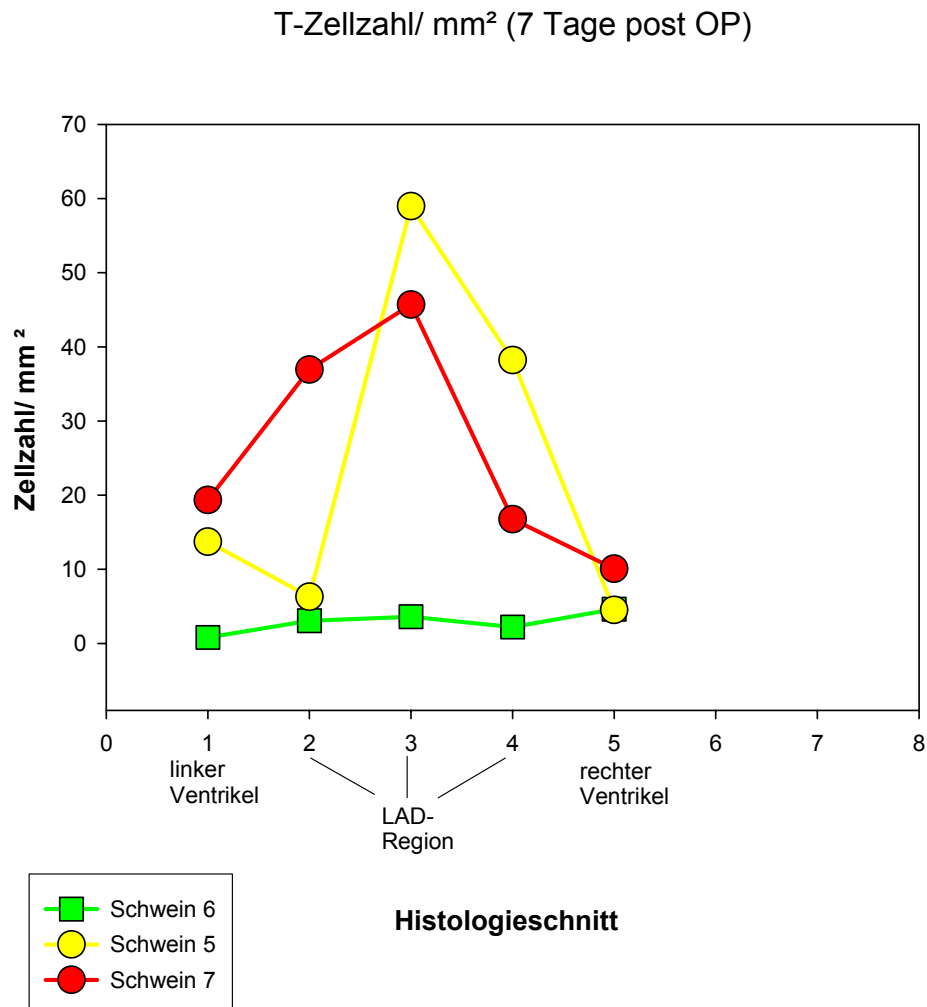


Abb. 34: T-Zellzahl/ mm² 7 Tage post OP

Bei Schwein 5 kann in der LAD-Region in Histologieschnitt 3 (58,97 Zellen/mm²) und 4 (38,22 Zellen/mm²) ein vermehrter Gehalt an Entzündungszellen gemessen werden. Bei allen Schnittebenen von Schwein 6 können nur vereinzelt T-Zellen gezählt werden. In den LAD-Regionen sowie im linken Ventrikel (19,36) von Schwein 7 liegt ein vermehrter T-Zellengehalt (36,94; 45,71; 16,76 Zellen/mm²) vor (Abb. 34).

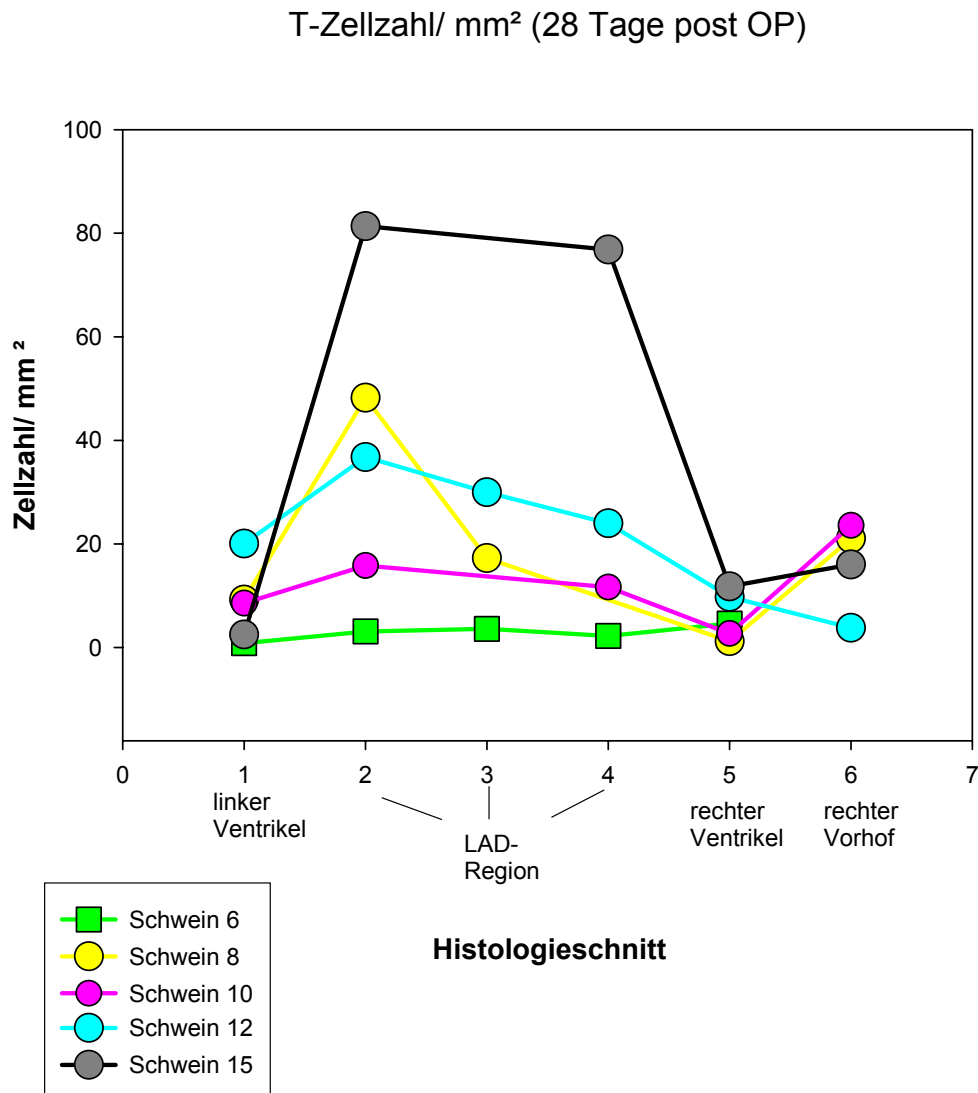


Abb. 35: T-Zellzahl/ mm² 28 Tage post OP

In Schnittebene 2 (48,24 Zellen/mm²) von Schwein 8 liegt ein erhöhter Gehalt an T-Zellen vor. Bei Schwein 10 kann im rechten Vorhof eine Entzündung mit 23,57 Zellen/mm² beobachtet werden. In den LAD-Regionen von Schwein 12 kann eine mäßige Erhöhung an Entzündungszellen gezählt werden (36,76; 29,97; 23,98 Zellen/mm²). Eine massive Vermehrung der T-Zellen kann im Schnitt 2 (81,35 Zellen/mm²) und im Schnitt 4 (76,82 Zellen/mm²) von Schwein 15 (Abb. 33, Seite 67) beobachtet werden (Abb. 35). Im Gegensatz dazu können im rechten Ventrikel von Schwein 15 nur 11,80 Zellen/ mm² (Abb. 32, Seite 67) gezählt werden.

4 DISKUSSION

4.1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit untersucht die pathologischen Veränderungen im Schweinemyokard mit regionaler ischämischer Dysfunktion nach einer Stentimplantation in der LAD.

Die chronisch ischämische linksventrikuläre Dysfunktion geht mit strukturellen Veränderungen der Kardiomyozyten sowie des Interstitiums einher [VANOVERSCHELDE et al., 1993; VANOVERSCHELDE et al., 1997]. DEPRE et al. (1995) haben in ihrer Studie einen Verlust des kontraktiven Apparates und der Myozyten und eine Zunahme extrazellulären Bindegewebes beobachtet. In der Studie von ELSÄSSER et al. (1998) wird die Anhäufung von kollagenem Bindegewebe in dem erweiterten interstitiellen Raum beschrieben und neben der zellulären Degeneration als Maß für die Erholung des dysfunktionellen Gewebes nach einer Bypass-Operation angesehen.

4.2 Material und Methoden

4.2.1 Wahl der Versuchstierspezies

Grundsätzlich stellt sich bei jedem tierexperimentellen Ergebnis die Frage nach der Übertragbarkeit auf den Menschen. Diese ist u.a. von der passenden Auswahl der Versuchstierspezies abhängig. Das Schwein hat sich auf dem Forschungsgebiet der „Koronaren Herzkrankheit“, die sich in der Regel auf Themen wie Atherosklerose, Thrombose, hibernierendes Myokard und Therapiemethoden konzentriert, als geeignetes Versuchstier aufgrund der ähnlichen Gefäßanatomie des Menschen und gleicher Merkmale ischämischer Veränderungen und Schäden (z.B. Herzinfarkt) erwiesen. Zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen zum Thema „Hibernating Myokard“ wurden mit dieser Versuchstierspezies bereits von RAHIMTOOLA (1989), CHEN et al. (2000), LAI et al. (2000), ST LOUIS et al. (2000), FALLAVOLLITA et al. (2002) und anderen durchgeführt. Sie machen überwiegend eine Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen wahrscheinlich.

Mensch und Schwein weisen ein ähnliches relatives Herzgewicht auf [BAROLDI et al., 1956; FRENCH et al., 1965; FOLTS und ROWE, 1983; BLOOR et al., 1992]. Zudem zeigt auch die Anatomie des Koronarsystems Übereinstimmungen [SCHAPER et al., 1967; BLOOR et al., 1992].

Ferner bestehen bei Mensch und Schwein vergleichbare Verhältnisse, was die Ausbildung atherosklerotischer Plaques angeht: Neben dem Menschen und einigen anderen Primatenarten

treten nur beim Schwein primär Atherosklerosen im Bereich von Gefäßverzweigungen, vornehmlich der Aorta und der Koronarien, auf. Eine Fütterung mit erhöhtem Cholesteringehalt verstärkt die Ausprägung dieser Erscheinungen. Die Hypercholesterinämie zählt auch beim Menschen zu den Risikofaktoren für die Ausbildung atherosklerotischer Plaques [FRENCH et al., 1965; ROWSELL et al., 1965; FUSTER und CHESEBRO, 1985; STEELE et al., 1985; ROSS, 1986; WHITE et al., 1992].

Der Einsatz juveniler Tiere in dieser Studie hat den Vorteil, dass sie noch leicht sind und auch nach 4 Wochen Überlebenszeit noch relativ einfach zu handhaben sind. Für einen längeren Überlebenszeitraum sind Schweine der Rasse „Deutsches Landschwein“ aufgrund ihres starken Wachstums ungeeignet. Mit einem Körpergewicht von ca. 300 bis 350 kg wären adulte Schweine im Management wesentlich problematischer. Zudem entspräche die Herzgröße in dieser Gewichtsklasse nicht mehr der eines erwachsenen Menschen, und würde die Verwendung humanmedizinischer PTCA-Instrumente stark einschränken. Für Langzeitstudien sind daher ausgewachsene Minipigs geeigneter, deren Gewicht auch bei längeren Überlebenszeiten nur in geringem Maße Schwankungen unterworfen ist.

Das Schwein besitzt, wie der Mensch, eine ungenügende Kollateralversorgung im Bereich des Koronarkreislaufs. Aus diesem Grund entwickeln sich bei Mensch und Schwein akute vollständige Verschlüsse von Koronararterien zu einem Infarkt in den versorgenden Myokardregionen. Wegen der Vergleichbarkeit beider Spezies, können aus den Erkenntnissen vom Schwein wichtige Schlüsse für humanmedizinische Fragestellungen gezogen werden. Zudem weist der Mensch sogar noch vergleichsweise günstigere Verhältnisse auf, wenn es um die Ausbildung von Kollateralen zur Versorgung hypoxisch geschädigter Bereiche geht [SCHAPER et al., 1967; BLOOR et al., 1992]. Beim Schwein entstehen in dem ischämischen Gebiet lediglich Gefäße, die kaum größer als Kapillaren sind [SCHAPER, 1995].

Aufgrund der reichlichen Kollateralversorgung erscheint der Hund als Tiermodell für die Infarktforschung ungeeignet [ALLWORK, 1987].

Tierexperimentelle Studien an Primaten (z.B. Rhesusaffen) sprechen trotz guter Übertragbarkeit der Resultate aufgrund technischer, wirtschaftlicher und ethischer Aspekte gegen eine Verwendung dieser Versuchstierarten.

Der in der Literatur beschriebene, weit verbreitete Einsatz des Schweines, besonders bei der Erforschung eines „chronisch ischämischen Modells“, ist wegen der Vergleichsmöglichkeit der erzielten Resultate mit anderen, unter ähnlichen Bedingungen durchgeführten Experimenten von Vorteil [RAHIMTOOLA, 1989; FALLAVOLLITA et al., 2002].

4.2.2 Dauer des Versuchszeitraums

Der Versuchszeitraum wurde in Anlehnung an eine Vielzahl von experimentellen Studien auf eine Zeit von 7 bzw. 28 Tagen festgelegt [RAHIMTOOLA, 1989; FELDHAUS und LIEDKE, 1998; FALLAVOLLITA et al., 2002; VON DEGENFELD et al., 2002]. Einige vorangegangenen Untersuchungen ergaben, dass nach 4 Wochen durch eine fortgeschrittene Gefäßstenose eine länger andauernde Ischämie im Sinne eines „Hibernating Myokards“ vorgelegen hat.

Bisher gibt es kein etabliertes und standardisiertes Tiermodell mit annähernd konstanten Langzeitbedingungen [CANTY und FALLAVOLLITA, 1995], wohl aber geeignete Ansätze. SHEN et al. (1996) erzeugten bei Minischweinen mit allmählich aufquellenden Ameroidkonstriktoren innerhalb von 4 bis 6 Wochen Kranzarterienverschlüsse mit multiplen Mikroinfarkten, die von hellen Herzmuskelzellen umgeben waren. Aber auch hier schwankte die Durchblutung. CHEN et al. (1996) entwickelte - ebenfalls beim Schwein – ein 24 h-Kurzzeit-Hibernierungsmodell, dass reversible ultrastrukturelle Veränderungen aufwies.

4.2.3 Überlegungen zum Versuchsmodell

In der vorliegenden Studie ist ein länger andauerndes Ischämie - Modell am Schweineherzen mit einer Stentimplantation reproduziert worden [VON DEGENFELD et al., 2002].

In einigen Studien wird durch Einsetzen eines Ameroidkonstriktors um die LAD eine chronische myokardiale Ischämie beobachtet [UNGER et al., 1993; SHEN et al., 1996; MACK et al., 1998]. Der Nachteil dieses Ameroidkonstriktor- Modells liegt im vollständigen Verschluss der LAD nach ca. 2 bis 3 Wochen, der zu einer starken Kollateralbildung am Schweineherzen führen kann. Letzteres verhindert wiederum die Entwicklung eines hibernierenden Myokards mit einem „perfusion-metabolism-mismatch“ [HARIAWALA et al., 1996; LOPEZ et al., 1998; DOMKOWSKI et al., 2000]. HARADA und seine Kollegen (1994) haben in ihrer Studie beobachtet, dass durch die Kollateralbildung am Schweineherzen, ca. 3 bis 4 Wochen nach dem vollständigen Verschluss der LAD, keine Wandbewegungsstörungen während der Dobutamin-Stressechokardiographie (DSE) aufgetreten sind. Im Gegensatz dazu konnten ST LOUIS und seine Kollegen (2000) Wandbewegungsstörungen bei der DSE beobachten, nachdem sie bei über 200 Schweinen eine Stenose der Koronararterie mit der „hydraulic occluder“-Technik provozierten. Daraus wurde geschlossen, dass die Hydraulik-Technik ein geeignetes und reproduzierbares Tiermodell darstellt. Gegen diese beiden Modelle spricht der invasive chirurgische Eingriff, der mit nicht unerheblichen Schmerzen des Tieres verbunden sein kann.

In der Studie von VON DEGENFELD et al. (2002), welche einen vorpräparierten Stent verwendet, kann ein reproduzierbarer Stenosegrad von initial ca. 72 % bis ca. 91 % sieben Tage nach der Implantation hervorgerufen werden. Eine myokardiale Ischämie mit reduzierter myokardialer Durchblutung wird beobachtet.

Ähnlich zum Ameroidkonstriktor – Modell [UNGER et al., 1993; HARADA et al., 1994; MACK et al., 1998] kann der genaue Zeitpunkt des kompletten Verschlusses der Koronararterie nach der Stentimplantation nicht vorhergesehen werden. Ein vollständiger Verschluss des vorpräparierten Stents erfolgt zwischen dem 7. und 28. Tag nach der Implantation.

In der vorliegenden Studie konnten nur bei einem Schwein Ergebnisse erzielt werden, die für ein Vorliegen eines hibernierenden Myokards sprechen. Schwein Nr. 8 zeigt bei der PET-Untersuchung eine vermehrte FDG-Aufnahme (Vitalitätsnachweis) bei reduzierter Durchblutung im LAD-Bereich. In zahlreichen Studien ist die Positronen-Emissions-Tomographie zum Nachweis von vitalem, dysfunktionellem Myokard herangezogen worden [RAHIMTOOLA, 1989; FALLAVOLLITA et al., 1997; CANTY und FALLAVOLLITA et al., 2001; FALLAVOLLITA et al., 2001; BAX et al., 2002; EGRED et al., 2003]. Das histologische Bild von Schwein 8 zeigt, die in der Literatur beschriebenen, Veränderungen mit erhöhten Glykogengehalten, geringgradige Fibroseareale und das Vorliegen mesenchymaler Zellen.

4.3 Diskussion der eigenen Ergebnisse

4.3.1 Überlebensrate

Von den insgesamt 16 Versuchstieren sind 6 Schweine vor dem Ende des Versuchszeitraums gestorben.

Schwein Nr. 4 erleidet während der OP einen akuten Herzstillstand nach Kammerflimmern. Laut MARKOVITZ et al. (1989) reagieren besonders Schweine sehr sensibel auf Herzmanipulationen. Durch verschiedenste Reize der erregungsbildenden und -leitenden Strukturen können Herzrhythmusstörungen ausgelöst werden. Als Reize kommen mechanische Irritationen durch die Spitze des Führungskatheters bzw. der Führungsdrähte oder frisch implantierter Stents zum einen sowie hypoxische Reize infolge koronarer Spasmen, thrombotischer Verschlüsse oder Lumenblockade durch den Führungskatheter zum anderen in Frage. Bei Schwein Nr. 4 ist mit größter Wahrscheinlichkeit die mechanische Irritation durch den Führungskatheter oder ein koronarer Spasmus als Ursache der Herzrhythmusstörungen anzusehen. Zum Zeitpunkt des Herzstillstandes ist noch kein Stent implantiert.

In vielen experimentellen Studien mit PTCA oder Stentimplantation am Schwein werden prophylaktisch Antiarrhythmika, wie z.B. Amiodaron (Cordarex®) oder Nitroglycerin, appliziert.

Schwein Nr. 9 zeigt während der MRT-Untersuchung in Narkose eine hochgradige Hypoxie, die sich trotz Beatmung nicht bessert und schließlich zu einer Apnoe und zum Tod führt.

Die Tiere Nr. 11 und 16 scheinen entsprechend den Ergebnissen der Sektion an den Folgen eines Herzinfarktes aufgrund eines vollständigen Verschlusses des Gefäßes verstorben zu sein.

Da in der vorliegenden Studie aus Kostengründen mit wiederverwendeten, resterilisierten Materialien aus vormalig humanmedizinischer Verwendung gearbeitet wird, kann es sporadisch zu Ausfällen von Instrumenten (Platzen von Dilatationsballonen, Starrwerden bzw. leichteres Abknicken von Führungsdrähten, etc.). Bei der Stentimplantation von Schwein 16 platzt der Dilatationsballon und die Lage des Stents muss korrigiert werden. Bei der Manipulation fallen bereits infarkttypische Abweichungen vom physiologischen EKG auf. Eine ST-Strecken-Anhebung bei hochpositiver T-Zacke kann beobachtet werden. Das Tier nimmt am 3. Tag post implantationem oft die Brustlage ein und zeigt Vomitus mit Inappetenz und verstirbt eine Stunde nach dem Auftreten der oben beschriebenen klinischen Symptome.

Die konkrete Todesursache des Tieres Nr. 13, das acht Tage nach der Stentimplantation stirbt, bleibt unklar. Die Sektionsergebnisse schließen das Vorliegen eines Infarktes aus.

Bei dem am Tag 8 des Versuchszeitraums verendeten Schwein Nr. 14 fällt eine faustgroße, derbe Umfangsvermehrung an der ventralen Halsseite auf, die die Trachea so stark komprimiert, dass eine Atmung ohne Tubus unmöglich macht. Die Sektion im Anschluss der Euthanasie zeigt massenhaft nicht geronnenes Blut, das aus der A. carotis sickert. Im Verlauf der OP wurde wahrscheinlich das Gefäß leicht perforiert. Dazu kommt die starke Blutungsneigung der antikoagulierten Tiere mit systemisch verabreichten Medikamenten (Clopidogrel, Acetylsalicylsäure und Heparin).

Es ist zu überlegen, ob nicht durch eine niedrigere Dosis systemischer, antithrombotisch wirksamer Medikamente die Gefahr von Blutungen vermindert werden kann. Gleichzeitig steigt dann jedoch das Infarktrisiko der Tiere.

4.3.2 Ergebnisse der pathologisch-histologischen Untersuchungen

Der histologische Nachweis des hibernierenden Myokards nach Stentimplantation durch Ermittlung des Kollagen-, Myofibroblasten- und Glykogengehaltes ist in Anlehnung an verschiedene Studien [BORGERS und AUSMA, 1995; ELSÄSSER et al., 1998; CANTY und

FALLAVOLLITA, 2001; FRANGOIANNIS et al., 2002; GUNNING et al., 2002] durchgeführt worden.

43 Biopsien sind entnommen und untersucht worden. Die in der Literatur beschriebene histologische Heterogenität, von fast normalem Myokard bis hin zu ausgedehnten Bindegewebsarealen [HORT und ARNOLD, 2000; GUNNING et al., 2002], kann auch in der vorliegenden Studie beobachtet werden. Die meisten histologischen Proben zeigen strukturelle Unterschiede, d.h. unterschiedlich große Myozyten, welche entweder atrophiert oder hypertrophiert sind. Es liegt je nach Degenerationsgrad ein unterschiedlicher Kollagengehalt vor und eine vermehrte intrazytoplasmatische Glykogenansammlung. Schon ELSÄSSER und seine Kollegen (1997) haben betont, dass das Myokard unter dem Einfluss von schädlichen Noxen (z.B. Hypoxie) ein begrenztes Kompensationsvermögen aufweist und es schnell zur Degeneration der Myozyten kommen kann.

Die Proben der einzelnen Versuchstiere zeigen interindividuelle Unterschiede, die vermutlich durch den unterschiedlichen Grad der Stenose, und nicht zuletzt durch individuelle Unterschiede in der Anatomie der Herzkranzgefäße sowie durch eine mehr oder weniger starke Ausbildung von Kollateralen, hervorgerufen wurde.

Der unterschiedliche Fibrosegrad ist einerseits durch eine interstitielle Fibrose und andererseits durch ganze Bindegewebsinseln gekennzeichnet. Letztere liegen beim histologischen Bild eines Herzinfarktes vor. Die Schweine Nr. 5, 7 und 15 zeigen makroskopisch Infarktregionen in den Versorgungsgebieten der LAD, die bei Schwein Nr. 7 (31,98 %) und Nr. 15 (34,15 %) histologisch durch stark erhöhte Kollagengehalte und die massive Erhöhung von Entzündungszellen (Schwein 7: 45,71 und Schwein 15: 81,35 Zellen/mm²) charakterisiert sind. Alle drei Schweine zeigen einen kompletten Verschluss des Gefäßes. Der Nachteil des Stentmodells in der vorliegenden Studie besteht darin, dass ein genauer Zeitpunkt des vollständigen Verschlusses nicht vorhersehbar ist [VON DEGENFELD et al., 2002]. Schon nach sieben Tagen liegt ein vollständiger Verschluss der LAD beim Tier Nr. 5 und Nr. 7 vor. Hingegen zeigt Schwein Nr. 6 am Ende des Versuchszeitraums (4 Wochen post implantationem) lediglich eine 90 % Stenose der LAD. In der PET kann bei diesem Tier keine erhöhte Aufnahme des Glukoseanaloges ¹⁸FDG und keine verminderte Perfusion gemessen werden. Makroskopisch sowie mikroskopisch liegt kein infarziertes Myokard vor. Die Schweine Nr. 10 und 12 zeigen nach 4 Wochen post implantationem in der Angiographie eine 95 % Stenose der LAD im Stentbereich. Makroskopisch sind rötlich-graue Areale im Bereich der linken Kammer und der Herzspitze zu beobachten. Schwein Nr. 10 zeigt einen erhöhten Kollagengehalt (17,70 %) in der Ischämie-Zone der LAD, was wiederum zum Vorliegen des Infarktes

passt. Die geringgradige Erhöhung (5,75 %) des Kollagengehaltes in der LAD in Schwein Nr. 12 würde für das Vorliegen eines hibernierenden Myokards sprechen, jedoch zeigte das Tier in der PET eine unklare erhöhte ^{18}F FDG-Aufnahme im Bereich der LCX.

Schwein Nr. 8 weist makroskopisch keinen Infarkt auf, zeigt in der PET die typischen Veränderungen eines hibernierenden Myokards mit erhöhter ^{18}F FDG-Aufnahme bei verminderter Durchblutung im Bereich der LAD und in der sonographischen Untersuchung liegen Wandbewegungsstörungen in diesem Bereich vor. Auch die geringgradige Erhöhung des Kollagens (7,06 %, 12,04 %) passt zum Bild des hibernierenden Myokards [ELSÄSSER et al., 1997: GUNNING et al., 2002].

Im normalen und hibernierenden Myokard wird das fetale Protein α -smooth-muscle-actin nur im Endothel und in den glatten Muskelzellen von Blutgefäßen, nicht aber in Myozyten, gefunden [ELSÄSSER et al., 1997]. Fibroblasten spielen eine wichtige Rolle beim „Remodelling“-Prozess der extrazellulären Matrix, indem sie die extrazellulären Matrixproteine synthetisieren. Bei allen Schweinen korreliert der Myofibroblastengehalt mit dem erhöhten Kollagengehalt in der Probe. Das heißt reparative Prozesse werden in Gang gesetzt und eine vermehrte Gefäßneubildung sowie eine Synthese von Matrixproteinen finden statt.

Das in Herzzellen gespeicherte Glykogen dient bei hypoxischen Zuständen als „Energiequelle“, und wird in der vorliegenden Arbeit mit Hilfe der histologischen PAS-Färbung nachgewiesen [GRICE et al., 1987]. Schwein Nr. 5 zeigt in den ischämischen Bezirken eine vermehrte Glykogenansammlung (15,7 %, 6,2 %, 8,2 %) in den Zellen. Auch in den LAD-Proben von Schwein 7 können erhöhte Glykogenwerte (10,5 %, 6,8 %, 9,8 %) gemessen werden. Jedoch zeigt Schwein 7 auch in Kontroll-Proben eine unklare Glykogenerhöhung. Der Schnitt 4 aus der LAD-Region bei Schwein Nr. 10 stellt, nach der histologischen Untersuchung, annähernd normales Myokardgewebe dar, d.h. der Kollagen-, Myofibroblasten- und Glykogengehalt ist nicht erhöht. In der Region von Schnitt 2 liegt möglicherweise ein hibernierendes Myokard vor, da der Glykogengehalt erhöht ist und eine mäßige Vermehrung von kollagenem Bindegewebe und aktiven Myofibroblasten vorliegt. Schwein 12 zeigt eine starke Erhöhung des Glykogengehalts in den LAD-Regionen, was für einen veränderten Stoffwechsel der Zellen spricht. Schwein 15 zeigt zusammen mit dem Herz von Schwein 8 histologische Veränderungen, die denen des hibernierenden Myokards im Menschen nahe kommen. Es liegt eine vermehrte Glykogenansammlung in den Zellen vor und ein proportionaler Anstieg des Kollagen- und Myofibroblastengehalts ist zu beobachten.

Das Herz von Schwein 8 weist weder makroskopisch noch histologisch ein Vorliegen eines Infarktes auf. Dieses Schwein entwickelt experimentell als einziges eine Situation im Herzen,

die dem „Hibernating Myokard“ des Menschen gleich kommt. Am Ende des Versuchszeitraums ist das Gefäß vollständig geschlossen, die PET-Daten zeigen ein signifikantes „Mismatch“ und Wandbewegungsstörungen liegen vor. Parallel dazu liegen eine geringgradige Fibrose mit aktivierten Myofibroblasten und eine vermehrte Glykogenansammlung in Zellen, die einer Ischämie ausgesetzt wurden, vor. In mehreren experimentellen Studien über das „hibernating“ Myokard konnten gleiche Ergebnisse erzielt werden [FLAMENG et al., 1981; BORGER und AUSMA, 1995].

4.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Klinische sowie experimentelle Studien haben gezeigt, dass die myokardiale Hibernation eine Form der reversiblen linksventrikulären Dysfunktion darstellt, bei der eine chronische Hypoperfusion des myokardialen Gewebes besteht [BERRY und MASEK, 2002; MARI und STRAUSS, 2002; CANTY und FALLAVOLLITA, 2001]. Es scheint eher eine Form der Adaption und weniger eine Degeneration von Myozyten und extrazellulärer Matrix vorzuliegen. Myozyten im hibernierenden Myokard unterscheiden sich durch verschiedene ultrastrukturelle Veränderungen von denen, die durch Ischämie irreversibel geschädigt wurden. Solche histologischen Veränderungen, die eine Verminderung der kontraktilen Elemente, eine Akkumulation von Glykogen und eine mäßige Zunahme des kollagenen Bindegewebes beinhalten, können in der eigenen Studie in mehreren Schweinen beobachtet werden. Diese morphologischen und immunohistochemischen Veränderungen sprechen möglicherweise für eine Dedifferenzierung zum fetalen/embryonalen Stadium der Myozyten und für ein „Remodelling“ der extrazellulären Matrix. Durch diese Veränderungen kann das Myokardgewebe möglicherweise eine chronisch vaskuläre Insuffizienz besser tolerieren.

Dennoch bleibt eine Vielzahl von Fragen unbeantwortet. Ein wesentlicher limitierender Faktor besteht in der Problematik ein geeignetes Tiermodell zu etablieren, das ein so komplexes klinisches Syndrom wie das hibernierende Myokard reproduziert. Die meisten gegenwärtigen Tiermodelle spiegeln die metabolischen und morphologischen Veränderungen des „short-term“-hibernating Myokards wieder. Einige Ergebnisse (in der Studie: Schwein 8) sind der Pathologie des menschlichen chronischen Hibernating ähnlich, aber dennoch existiert noch kein Tiermodell, das alle komplexen Mechanismen des hibernierenden Myokards verständlich macht und zuverlässig reproduziert. Initiale biochemische Signale, wie z.B. die Einflüsse, die zu einer Verminderung der Kontraktilität führen oder eine veränderte Gen- und Protein-Expression, die vielleicht durch die Minderperfusion hervorgerufen wird, sind zur Zeit noch unklar. Außerdem ist die Rolle der Apoptose und andere zelluläre und molekulare

Mechanismen noch nicht vollständig verstanden. Ein geeignetes Klein- oder Großtiermodell könnte zur Klärung beitragen.

Nicht zuletzt mag die Schwierigkeit darin bestehen, dass im menschlichen Herzen eventuell nur kurze Ischämie-Episoden zu einem „stunned“ bzw. „hibernating“ Myokard führen. Diesen Pathomechanismus in einem Tiermodell mit einer „fixen“ Stenose und vor allem ohne körperliche Anstrengung, die kurzzeitige Ischämieperioden provozieren könnte, zu reproduzieren ist sehr schwierig. Ein Ansatzpunkt für zukünftige Studien sollte, um kurze Ischämie-Episoden zu induzieren, die tägliche Bewegung des Tieres, zum Beispiel auf einem Laufband, sein. Das Phänomen des akuten „Perfusions-Kontraktions“-Matching mit reduzierter myokardialer Perfusion kann möglicherweise nur über einen begrenzten Zeitraum aufrechterhalten werden und führt unweigerlich nach ca. 24 Stunden in einen subendokardialen Infarkt. Die in der Klinik zu beobachtenden fließenden Übergänge der kardialen Krankheitsbilder bis hin zum Infarkt, spiegeln den dynamischen Prozess, den interindividuell unterschiedlichen Verlauf und nicht zuletzt das begrenzte Kompensationsvermögen des Myokards wieder. Genau darin mag die Schwierigkeit bestehen ein geeignetes In-vivo- Modell zu finden, das ischämisch bedingte Veränderungen des Stoffwechsels ähnlich dem menschlichen Krankheitsbild entwickelt. Aus diesem Grund überwiegen möglicherweise in der vorliegenden Studie die myokardialen Infarkte und nur in einem Tier konnte das hibernierende Myokard durch die Implantation eines Stents reproduziert werden.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund: Myokardiale Hibernation geht mit erheblichen metabolischen und morphologischen Veränderungen einher, die sowohl die Myokardiozyten als auch das Interstitium betreffen. Durch histologische und immunhistologische Untersuchungen soll ein besseres Verständnis der Stoffwechselveränderungen insbesondere des Glukosemetabolismus erzielt werden.

Methode: Durch die Implantation eines vorpräparierten Stents, der die Koronararterie (LAD) einengt, wird bei 16 Schweinen (Deutsche Landrasse) modellhaft länger andauernde Minderperfusion mit Ischämie induziert. Das Implantat weist einen initialen Stenosegrad von 75 % auf und soll während des Versuchszeitraums langsam zu einem vollständigen Verschluss des Gefäßes führen.

Wandbewegungsstörungen werden am Tag 7 post implantationem mittels Magnetresonanztomographie und sonographischer Untersuchung ermittelt. Nach einer Positronen-Emissions-Tomographie (PET) 7 (n = 6) bzw. 28 (n = 10) Tage post implantationem, bei der die Durchblutung ($^{13}\text{NH}_3$) und der Stoffwechsel (^{18}FDG) des Myokards gemessen werden, erfolgt die Euthanasie der Tiere. Myokardiale Biopsien aus den „mismatch“-Regionen (erhöhte ^{18}FDG -Aufnahme bei reduzierter Perfusion im PET) und den Kontrollproben aus dem rechten, dem linken Ventrikel und dem rechten Vorhof werden histologisch und immunhistochemisch untersucht.

Ergebnisse: Nach der PET konnten bei nahezu allen Versuchstieren ein reduzierter Blutfluß ($^{13}\text{NH}_3$) und eine erhöhte glykolytische Aktivität (^{18}FDG) im Bereich der LAD-Stenose gemessen werden. Es lag ein sogenanntes „perfusion-metabolism-mismatch“ vor. Die aus diesem Bereich der LAD entnommenen Biopsien zeigten bei den Langzeittieren (28 Tage post OP, n = 10) eine signifikante Erhöhung ($p < 0,05$) des Kollagengehaltes ($0,12 \pm 0,12$ %) im Vergleich zu den Proben aus den Kontrollregionen des Ventrikels und Vorhofs dieser Tiere ($0,02 \pm 0,02$ %). Der Glykogengehalt in den „mismatch“-Regionen der LAD war ebenfalls signifikant ($p < 0,05$) erhöht ($0,06 \pm 0,03$ %) im Vergleich zu den Kontrollbiopsien ($0,005 \pm 0,006$ %). Trotz der Schwierigkeit ein länger andauerndes „hibernating“ Myokard im Tierversuch modellhaft zu reproduzieren, ist es in der zugrundeliegenden Studie gelungen, ein Tier (Schwein 8) zu gewinnen, dass eine Situation im Herzen entwickelte, die dem „Hibernating Myokard“ des Menschen gleich kommt. Am Ende des Versuchszeitraums war das Gefäß vollständig geschlossen, die PET-Daten zeigten ein signifikantes „Mismatch“ und geringgradige Wandbewegungsstörungen lagen vor. Parallel dazu lagen eine geringgradige

Fibrose mit aktivierten Myofibroblasten und eine vermehrte Glykogenansammlung in Zellen, die vermutlich repetitiv Ischämie ausgesetzt waren, vor.

Schlussfolgerung: Im Gegensatz zu einigen Modellansätzen für das „short-term hibernating myocard“ existiert für länger andauerndes Hibernating im Zeitraum von Wochen oder Monaten noch kein anerkanntes und etabliertes Tiermodell. Dies mag mit der Grund dafür sein, dass die komplexen Mechanismen, die dem klinischen Syndrom des hibernierenden Myokards zugrundeliegen, zur Zeit noch weitgehend unklar sind. Die in der Klinik zu beobachtenden fließenden Übergänge der kardialen Krankheitsbilder bis hin zum Infarkt, spiegeln den dynamischen Prozeß, den interindividuell unterschiedlichen Verlauf und nicht zuletzt das begrenzte Kompensationsvermögen des Myokards wider. Genau darin mag die Schwierigkeit bestehen ein geeignetes In-vivo-Modell zu finden, das ischämisch bedingte Veränderungen des Stoffwechsels ähnlich dem menschlichen Krankheitsbild entwickelt. Jedoch wird jedes geeignete Klein- oder Großtiermodell zur Klärung etwas beitragen.

6 SUMMARY

Pathologically-anatomical and immunohistochemistic investigation of ischemic myocardium in the pig

Background: Different degrees of histological alteration have been seen in hibernating myocardium. Hibernation is associated with structural myocardial changes, which involve both the cardiomyocytes and the cardiac interstitium. The purpose of this study is to investigate the effects of chronic myocardial ischemia on histological patterns to understand the underlying mechanism of hibernation.

Methods: A model of ischemic injury was produced in 16 pigs (German land breed) by placement of a modified stent graft in the left anterior descending artery (LAD), which initially produced 75% stenosis, followed by a slow complete occlusion. Wall motion abnormalities were investigated by Magnetic Resonance Imaging (MRI) and ultrasound images at day 7 after implantation. Metabolism and perfusion were imaged by Positron Emission Tomography (PET) at day 7 (group 1) and at day 28 (group 2). After PET images the animals were sacrificed and tissue samples were taken for histology.

Results: Viability in PET is defined by a relative decrease in perfusion in an area where there is a relative increase in FDG (fluorodeoxyglucose) concentration. This is often referred to as a “mismatch” pattern. In the study nearly all pigs showed this “mismatch” in the LAD area. The following significant results could be found in the mismatched samples: the accumulation of collagen ($0,12 \pm 0,12$ %, $p < 0,05$) in LAD samples compared to those taken from remote area ($0,02 \pm 0,02$ %) and glycogen rich perinuclear zones in LAD samples ($0,06 \pm 0,03$ %, $p < 0,05$). Despite the difficulties of reproducing a long-term hibernating myocardium in an animal model, one pig (No.8) demonstrated physiological alterations that can be compared to those of human beings with hibernating myocardium. After 28 days the artery of the pig was completely occluded. A mismatch was determined by PET, and wall motion abnormalities were present. Furthermore in cells which were exposed to a repetitive ischemia, a small degree of fibrosis and glycogen richness were shown.

Conclusion: In contrast to various short-term hibernating myocardium models, no equivalent model exists for long-term hibernating myocardium over a time period of weeks or months yet. For this reason, the complete mechanism of chronic hibernating myocardium is still unclear. The fluent transition of the different heart failure up to the infarct as seen in the clinic reflect the dynamic process, the interindividuell differences and last but not least the reduced

SUMMARY

compensation abilities of the heart. Due to this it is difficult to find a matching in-vivo model that shows the same mechanism as humans. Therefore every small and large animal model is helpful for clarification.

7 LITERATURVERZEICHNIS

ABT-ELFATTAH A.S., MURPHY C.E., SALTER D.R., GOLDSTEIN J.P., GODWIN C.K., WECHSLER A.S.

Age and species related differences in adenine nucleotide degradation during myocardial global ischemia

Fed Proc 45, 1986: 1039

ALLWORK S.P.

A spectrum of normal coronary artery distribution in men

Anat Clin 1, 1979: 311-319

ALLWORK S.P.

The applied anatomy of the arterial blood supply to the heart in man

J Anat 153, 1987: 1-16

ALLWORK S.P., ANDERSON R.H., BECKER A.E.

Anatomie des Herzens

In: Allwork S.P., Anderson R.H., Becker A.E. (Hrsg.): Anatomie

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1982: 156

ANDERSON C., REZUKE W.N., KOSCIOL C.M., PASTUSZAK T., CARTUN R.W.

Identification of T cell lymphomas in paraffin-embedded tissues using polyclonal anti CD3 antibody: comparison with frozen section immunophenotyping and genotypic analyses

Mod Pathol 4, 1991: 359

ANDERSON R., BECKER A.

Koronararterien

In: Anderson R., Becker A.E. (Hrsg.): Anatomie des Herzens

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1982: 120-132

ANDERSON W.A.D.

Heart

Pathology 1, 1971: 598-612

APSTEIN C. S.

Glucose-insulin-potassium for acute myocardial infarction: remarkable results from a new prospective, randomized trial

Circulation 98, 1998: 2223-2226

AUSMA J., THONE F., DISPERSYN G.D., FLAMENG W., VANOVERSCHELDE J.L., RAMAEKERS F.C.S., BORGERS M.

Dedifferentiated cardiomyocytes from chronic hibernating myocardium are ischemia-tolerant

Mol Cell Biochem 186, 1998: 159-168

BAER F.M., SMOLARZ K., JUNGEHULSING M.

Chronic myocardial infarction: assessment of morphology, function, and perfusion by

gradient echo magnetic resonance imaging and 99 mTc-methoxyisobutyl-isonitrile SPECT

J Am Heart 123, 1992: 636-645

BARGMANN W.

Kreislauf und Abwehrsystem: Arterien und Venen

Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, 7. Auflage

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1977: 228-254

BARMEYER J.

Definition des Herzinfarktes

In: Barmeyer J., Reindell H. (Hrsg.): Koronare Herzerkrankung

Verlag Gerhard Witzstrock, Baden-Baden, Brüssel, Köln, New York 1977: 31

BAROLDI G.

Functional morphology of the anastomotic circulation in human cardiac pathology

Meth Achiev Exp Path 5, 1971: 438-473

BAROLDI G., MANTERO O., SCOMAZZONI G.

The collaterals of the coronary arteries in normal and pathologic hearts

Circ Res 4, 1956: 223-229

BAX J.J., FATH-ORDOUBADI F., BOERSMA E., WIJNS W., CAMICI P.G.

Accuracy of PET in predicting functional recovery after revascularisation in patients with chronic ischaemic dysfunction: head-to-head comparison between blood flow, glucose utilisation and water-perfusable tissue fraction

Eur J Nucl Med Mol Imag 29, 2002: 721-727

BENEKE D.

Herzinfarkte

In: Sandritter W., Beneke D. (Hrsg.): Allgemeine Pathologie

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 1974: 323-327

BERGMANN S., FOX K., GELTMANN E., SOBEL B.

Positron emission tomography of the heart

Prog Cardiovasc Dis 28, 1985: 165-194

BERRY G.J., MASEK M.

The pathology of hibernating myocardium

Nucl Med Commun 4, 2002: 303-309

BLOCK P.C., MYLER R.K., STERZER S., FALLON J.T.

Morphology after transluminal angioplasty in human beings

N Engl Med J 305, 1981: 382-385

BLOOR C.M., WHITE F.C., ROTH D.M.

The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion

In: Swindle M. M. (Hrsg.): Swine as models in biomedical research

Iowa State University Press, Ames, USA 1992: 163-175

BÖCKER W., DENK H., HEITZ PH.U.

Pathologie

Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore 1997: 402, 1049

BOEKSTEGERS P.

Stents, eine sinnvolle Therapieform bei der koronaren Mehrgefäßerkrankung?
Vortrag auf der Tagung der chirurgischen Arbeitsgemeinschaft für Biomaterialien der
Deutschen Gesellschaft für Chirurgie, München 02.12.1995

BÖTTINGER B.W., FLEISCHER F.

Medikamentöse Therapie der koronaren Herzkrankheit
Anästhesist 43, 1994: 699-717

BOLLI R., ZHU W.X., THORNBLY J., O'NEILL P., ROBERTS R.

Time course and determinants of recovery of function after reversible ischemia in conscious
dogs
J Am Physiol 254, 1990: H102-H114

BORGERS M., AUSMA J.

Structural aspects of the chronic hibernating myocardium in man
Basic Res Cardiol 90, 1995: 44-46

BORGERS M., THONE F., WOUTERS L., AUSMA J., SHIVALKAR B., FLAMENG W.

Structural correlates of regional myocardial dysfunction in patients with critically coronary
artery stenosis: Chronic hibernation?
Cardiovasc Pathol 2, 1993: 237-245

BROSIUS F. C., NGUYEN N., EGERT S., LIN Z., DEEB M., HAAS F., SCHWAIGER M.,
SUN D.

Increased sarcolemmal glucose transporter abundance in myocardial ischemia
Am J Cardiol 80, 1997: 77A-84A

BRUNKEN R., SCHWAIGER M., GROVER-MCKAY M., PHELPS M., TILLISCH J.,
SCHELBERT H.

Positron emission tomography detects tissue metabolic activity in myocardial segments with
persistent thallium perfusion defects
J Am Coll Cardiol 10, 1987: 557-567

BUJA L.M., WILLERSON J.T.

The role of coronary artery lesions in ischemic heart disease: insights from recent
clinicopathologic, coronary angiographic and experimental studies
In: Virmani R., Aktinson J.B., Fenoglio J.J. (Hrsg.): Cardiovascular pathology
Saers Company, Philadelphia 1991, 23: 42-60

CAESER R.

Ischämische Herzerkrankung
In: Remmele P. (Hrsg.): Pathologie, Band 1
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo 1984: 101-121

CAMPANA D., THOMPSON J.S., AMLLOT P., BROWN S., JANOSSY G.

The cytoplasmic expression of CD3 antigens in normal and malignant cells of T lymphoid
lineage
J Immunol 138, 1987: 648

CANTY J.M. JR, FALLAVOLLITA J.A.

Hibernating myocardium represents a primary downregulation of regional myocardial oxygen consumption distal to a critical coronary stenosis

Bas Res Cardiol 90, 1995: 5-8

CANTY J.M. JR, FALLAVOLLITA J.A.

Lessons from experimental models of hibernating myocardium

Coron Art Dis 12, 2001: 371-380

CHEN C., CHEN L., FALLON J.T., MA L., LI L., BOW L.

Functional and structural alterations with 24-hour myocardial hibernation and recovery after reperfusion. A pig model of myocardial hibernation

Circulation 94, 1996: 507-516

CHEN C., LIU J., HUA D., MA L., LAI T., FALLON J.T., KNIBBS D., GILLAM L., MANGION J., KNIGHT D.R., WATERS D.

Impact of delayed reperfusion of myocardial hibernation on myocardial ultrastructure and function and their recoveries after reperfusion in pig model of myocardial hibernation

Cardiovasc Pathol 2, 2000: 67-84

DAHME E.

Kreislauforgane

In: Dahme E., Weiss E. (Hrsg.): Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, 4. Auflage

Enke-Verlag, Stuttgart 1988: 1-36

DAHME E., SCHRÖDER B.

Atherosklerose-Arteriosklerose

In: Kitt T. (Hrsg.): Lehrbuch der allgemeinen Pathologie, 10. Auflage

Enke-Verlag, Stuttgart 1990a: 191-192

DAHME E., SCHRÖDER B.

Biochemische und morphologische Kriterien des Zelltodes

In: Kitt T. (Hrsg.): Lehrbuch der allgemeinen Pathologie, 10. Auflage

Enke-Verlag, Stuttgart 1990b: 158

DEGENFELD VON G., RAAKE P., KUPATT C., LEBHERZ C., HINKEL R., GILDEHAUS F.J., SIMOES M., SCHWAIGER M., THEI E., BOEKSTEGERS P.

Selective pressure-regulated retroinfusion of fibroblast growth factor-2 into the coronary vein enhances regional myocardial blood flow and function in pigs with chronic myocardial ischemia

Gene Ther 9, 2002: 518-526

DEPRE C., RIDER M.H., HUE L.

Mechanisms of control of heart glycolysis

Eur J Biochem 258, 1998: 277-290

DEPRE C., VANOVERSCHDELDE J.L., MELIN J.A.

Structural and metabolic correlates of the reversibility of chronic left ventricular ischemic dysfunction in humans

Am J Physiol 268, 1995: 1265-1275

DEPRE C., VANOVERSCHDELDE J.L., TAEGTMEYER H.

Glucose for the heart

Circulation 99, 1999: 578-588

DIAMOND G. A., FORRESTER J. S., DE LUZ P. L., WYATT H. L., SWAN H. J. C.

Post extrasystolic potentiation of ischemic myocardium by atrial stimulation

J Am Heart 95, 1978: 204-209

DOMKOWSKI P.W., HUGHES G.C., LOWE J.E.

Ameroid constrictor versus hydraulic occluder: creation of hibernating myocardium

Ann Thorac Surg 69, 2000: 1983-96

EGERT S., NGUYEN N., SCHWAIGER M.

Contribution of α -adrenergic and β -adrenergic stimulation to ischemia-induced glucose transporter GLUT4 and GLUT1 translocation in the isolated perfused rat heart

Circ Res 84, 1999: 1407-1415

EGRED M., AL-MOHAMMAD A., WAITER G.D., REDPATH T.W., SEMPLÉ S.K., NORTON M., WELCH A., WALTON S.

Detection of scarred and viable myocardium using a new magnetic resonance imaging technique: blood oxygen level dependent (BOLD) MRI

Heart 89, 2003: 738-744

ELSÄSSER A., SCHLEPPER M., KLÖVEKORN W.P., CAI W., ZIMMERMANN R., MÜLLER K.D., STRASSER R., KOSTIN S., GAGEL C., MÜNKELE B., SCHAPER W., SCHAPER J.

Hibernating myocardium: an incomplete Adaption to ischemia

Circulation 96, 1997: 2920-2931

ELSÄSSER A., SCHLEPPER M., ZIMMERMANN R., MÜLLER K.D., STRASSER R., KLÖVEKORN W.P.

The extracellular matrix in hibernating myocardium – a significant factor causing structural defects and cardiac dysfunction

Mol Cell Biochem 186, 1998: 147-158

ENGELHARDT V.W., BREVES G.

Physiologie der Haustiere

Enke Verlag, Stuttgart 2000: 137, 283

FALLAVOLLITA J.A., LOGUE M., CANTY J.M.

Stability of hibernating myocardium in pigs with a chronic left anterior descending coronary artery stenosis: absence of progressive fibrosis in the setting of stable reductions in flow, function and coronary flow reserve

J Am Coll Cardiol 37, 2001: 1989-1995

FALLAVOLLITA J.A., LOGUE M., CANTY JR J.M.

Coronary patency and its relation to contractile reserve in hibernating myocardium

Cardiovasc Res 55, 2002: 131-140

FALLAVOLLITA J.A., PERRY B.J., CANTY J.M.

18F-2-deoxyglucose deposition and regional flow in pigs with chronically dysfunctional myocardium. Evidence for transmural variations in chronic hibernating myocardium
Circulation 95, 1997: 1900-1909

FARTH-ORDOUBADI F., BEATT K. J.

Glucose-insulin-potassium therapy for treatment of acute myocardial infarction. An overview of randomized placebo-controlled trials
Circulation 96, 1997: 1152-1156

FEDELE F. A., GEWIRTZ H., CAPONE R.J., SHARAF B., MOST A.S.

Metabolic response to prolonged reduction of myocardial blood flow distal to a severe coronary artery stenosis
Circulation 78, 1988: 729-735

FEDELE F.A., MONTESANO T., FERRO-LUZZI M.

Identification of viable myocardium in patients with chronic coronary artery disease and left ventricular dysfunction: role of magnetic resonance imaging
J Am Heart 128, 1994: 484-489

FELDHAUS L., LIEDKE A.J.

mRNA expression of glycolytic enzymes and glucose transporter proteins in ischemic myocardium with and without reperfusion
J Mol Cell Cardiol 30, 1998: 2475-2485

FISCHER Y., THOMAS J., SEVILLA L.

Insulin-induced recruitment of glucose transporter 4 (GLUT4) and GLUT1 in isolated rat cardiac myocytes
J Biol Chem 272, 1997: 7086-7092

FLAMENG W., SUY R., SCHWARZ F., BORGERS M., PIESSENS J., THONE F., VAN ERMEN H., DE GEEST H.

Ultrastructural correlates of left ventricular contraction abnormalities in patients with chronic ischemic heart disease: determinants of reversible segmental asynergy postrevascularization surgery
J Am Heart 102, 1981: 846-857

FOLTS J.D., ROWE G.G.

Acute thrombus formation in stenosed pig coronary arteries, causing sudden death by ventricular fibrillation
Circulation 68/Suppl III, 1983: 264-269

FOX P.R.

Canine and feline cardiology
Churchill Livingstone Inc., New York, Edinburgh, London, Melbourne 1988: 70-71

FRANGOIANNIS N.G., SHIMONI S., CHAN S., REN G., DEWALD O., GERSCH C., SHAN K., AGGELI C., REARDON M., LETSOU G., ESPADA R., RAMCHANDANI M., ENTMANN M., ZOGHBI W.

Active interstitial remodelling: an important process in the hibernating human myocardium
J Am Coll Cardiol 9, 2002: 1468-1474

FRENCH J.E., JENNINGS M.A., FLOREY H.W.
Morphological studies on atherosclerosis in swine
Ann N Y Acad Sci 127, 1965: 780-799

FRIEHS I., MORAN A. M., STAMM C.
Impaired glucose transporter activity in pressure-overload hypertrophy is an early indicator of progression to failure
Circulation 100 [Suppl II] 1999: II187-II193

FUSTER V., CHESEBRO J.J.
Aortocoronary artery vein-graft disease: experimental and clinical approach for the understanding of the role of platelets and platelet inhibitors
Circulation 72/Suppl V, 1985: V65-V70

GOLDSTEIN R., KLEIN M., WELCH M., SOBEL B.
External assessment of myocardial metabolism with C-11 palmitate In-vivo
J Nucl Med 21, 1980: 342-348

GRANT P.J.
Hormonal regulation of the acute haemostatic response to stress
Blood Coagul Fibrinolysis 1, 1990: 299-306

GRAVANIS M.B., ROUBIN G.S.
Histopathologic phenomena at the site of percutaneous transluminal coronary angioplasty: the problem of restenosis
Human Pathol 20, 1989: 477-485

GRICE W.N., KONISHI T., APSTEIN C.S.
Resistance of neonatal myocardium in injury during normothermic and hypothermic ischemic arrest and reperfusion
Circulation 76 (Suppl V) 1987: 150-155

GROPLER R.J.
Methodology governing the assessment of myocardial glucose metabolism by positron emission tomography and fluorine 18-labeled fluorodeoxyglucose
J Nucl Cardiol 1, 1994: S4-S14

GRÜNTZIG A.R., SENNING A., SIEGENTHALER W.E.
Nonoperative dilatation of coronary- artery stenosis
N Engl J Med 301, 1979: 61-68

GUNNING M.G., KAPRIELIAN R.R., PEPPER J., PENNELL D.J., SHEPPARD M.N., SEVERIS N.J., FOX M.K., UNDERWOOD S.R.
The histology of viable and hibernating myocardium in relation to imaging characteristics
J Am Coll Cardiol 39, 2002: 428-435

GUTH B.D., SCHULZ R., HEUSCH G.
Time course and mechanisms of contractile dysfunction during acute myocardial ischemia
Circulation 87 (Suppl. IV) 1993: IV35-IV42

HARADA K., GROSSMAN W., FRIEDMAN M.

Basic fibroblast growth factor improves myocardial function in chronically ischemic porcine hearts

J Clin Invest 94, 1994: 623-630

HARIAWALA M.D., HOROWITZ J.R., ESAKOF D.

VEGF improves myocardial blood flow but produces EDRF-mediated hypotension in porcine hearts

J Surg Res 63, 1996: 77-82

HEUSCH G., ROSE J., SKYSCHALLY A., POST H. SCHULZ R

Calcium responsiveness in regional myocardial short-term hibernation and stunning in the in situ porcine heart- inotropic responses to postextrasystolic potentiation and intracoronary calcium

Circulation 93, 1996: 1556-1566

HEUSCH G., SCHULZ R.

Pathophysiologie des „hibernating“ und „stunned“ Myokards

Dtsch Med Wschr 119, 1998: 1589-1590, 1745-1746

HEYNDRICKX G.R., MILLARD R.W., MCRITCHIE R.J., MAROKO P.R., VATNER S.F.

Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs

J Clin Invest 56, 1975: 978-985

HOFFMAN E., PHELPS M.

Positron emission tomography: principles and quantitation

In: Phelps E., Maziotta J., Schelbert H. (Hrsg.): Positron emission tomography and autoradiography

Raven Press, New York 1986: 237-286

HORT W., ARNOLD G.

Durchblutungsstörungen des Myokards

In: Hort W., Seifert G. (Hrsg.): Pathologische Anatomie des Herzens und seiner Hüllen II

Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York 2000: 659-666

IP J.H., FUSTER V., ISRAEL D., BADIMON L., BADIMON J., CHESEBRO J.H.

The role of platelets, thrombin and hyperplasia in restenosis after coronary angioplasty

J Am Coll Cardiol 17, 1991: 77B-88B

KAGIYA T., ROCHA-SINGH K.J., HONBO N., KARLINER J.S.

Alpha 1 adrenoceptor mediated signal transduction in neonatal rat ventricular myocytes: effects of prolonged hypoxia and reoxygenation

Cardiovasc Res 7, 1991: 609-616

KALFF V., GALLAGHER K., NGUYEN N., MCCLANAHAN T., SCHORK A., SCHWAIGER M.

Dissociation of glucose utilization and blood flow in canine myocardial ischemia

Circulation 80, 1989 [Suppl II]: II-638-641

- KALFF V., SCHWAIGER M., NGUYEN N.
The relationship between myocardial blood flow and glucose uptake in ischemic canine myocardium determined with F-18-deoxyglucose
J Nucl Med 33, 1992: 1346-1353
- KHOURI E., GREGG D., RAYFORD C.
Effect of exercise on cardiac output, left coronary flow and myocardial metabolism in the unanesthetized dog
Circ Res 17, 1965: 427-437
- KLEIN M., GOLDSTEIN R., WELCH M., SOBEL B.
External assessment of myocardial metabolism with C-11 palmitate in rabbit hearts
Am J Physiol 237, 1979: H51-H58
- KLONER R.A., DE BOER L.W., DARSEE J.R., PRZYKIENK K., PATEL B.,
BRAUNWALD E.
Prolonged abnormalities of myocardium salvaged by reperfusion
J Am Physiol 1981, H591-9
- KUDEJ R.K., WHITE L.T., KUDEJ A.B.
Brief increase in carbohydrate oxidation after reperfusion reverses myocardial stunning in conscious pigs
Circulation 106, 2002: 2836
- LAI T., FALLON J.T., LIU J., MANGION J., GILLAM L., WATERS D., CHEN C.
Reversibility and pathohistological basis of left ventricular remodelling in hibernating myocardium
Cardiovasc Pathol 6, 2000: 323-335
- LIAO R., JAIN M., CUI L.
Cardiac-specific overexpression of GLUT 1 prevents the development of heart failure attributable to pressure overload in mice
Circulation 106, 2002: 2125-2131
- LOPEZ J.J., LAHAM R.J., STAMLER A.
VEGF administration in chronic myocardial ischemia in pigs
Cardiovasc Res 40, 1998: 272-281
- LÜSS H., SCHÄFERS M., NEUMANN J., HAMMEL D., VAHLHAUS C., BABA H.A.,
JANSSEN F., SCHELD H.H., SCHÖBER O., BREITHARDT G., SCHMITZ W.,
WICHTER T.
Biochemical mechanisms of hibernation and stunning in the human heart
Cardiovasc Res 56, 2002: 411-421
- MACK C.A., PATEL S.R., SCHWARZ E.A.
Biologic bypass
J Thorac Cardiovasc Surg 115, 1998: 168-176

- MANCHESTER J., KONG X., NERBONNE J.
Glucose transport and phosphorylation in single cardiac myocytes: rate-limiting steps in glucose metabolism
Am J Physiol 266, 1994: E326-E333
- MARI C., STRAUSS W.H.
Detection and characterization of hibernating myocardium
Nucl Med Commun 23, 2002: 311-322
- MARTIN C., SCHULZ R., ROSE J., HEUSCH G.
Inorganic phosphate content and free energy change of ATP hydrolysis in regional short-term hibernating myocardium
Cardiovasc Res 39, 1998: 318-326
- MASK W.K., ABT-ELFATTHA A.S., JESSEN M., BRUNSTING L.A., LEKVEN J., WECHSLER A.S.
Embryonic versus adult myocardium: adenine nucleotide degradation during ischemia
Ann Thorac Surg 48, 1989: 109-112
- MARKOVITZ L.J., SAVAGE E., RATCLIFFE M., BAVARIA J., KREINER G., IOZZO R., HARGROVE W.C., BOGEN D., EDMUNDS L.H.
Large animal model of left ventricular aneurysm
Ann Thorac Surg 48, 1989: 838-845
- MERINO A., COHEN M., BADIMON J.J., FUSTER V., BADIMON L.
Synergistic action of severe wall injury and shear forces on thrombus formation in arterial stenosis: definition of a thrombotic shear rate threshold
J Am Coll Cardiol 24, 1994: 1091-1094
- MEYER J., GROSS R., SCHÖLMERICH P., GEROK W.
Koronargefäßerkrankung
In: Schölmerich P., Gross R., Gerok W., Meyer J. (Hrsg.): Die innere Medizin
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 1994: 205-230
- MÖRL H.
Gefäßkrankheiten in der Praxis, 4. Auflage
VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1989: 1-9, 61-149
- MUECKLER M.
Family of glucose transporter genes: implication for glucose homeostasis and diabetes
Diabetes 39, 1990: 6-11
- MÜLLER D.
Ischämische Nekrose
In: Sandritter W. (Hrsg.): Allgemeine Pathologie, 2. Auflage
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 1986: 391-401
- MULLER D.W.M., ELLIS S.G., TOPOL E.J.
Experimental models of coronary artery restenosis
J Am Coll Cardiol 19, 1992: 418-432

NOLL S., SCHAUB-KUHNEN S.

Praxis der Immunhistochemie

In: Höfler H., Müller K.-M. (Hrsg.): Praxis der Immunhistochemie

Urban und Fischer Verlag, München, Jena 2000: 1-19

PANTELY G.A., MALONE S.A., RHEN W.S., ANSELONE C.G., ARAI A., BRISTOW J.,
BRISTOW J.D.

Regeneration of myocardial phosphocreatine in pigs despite continued moderate ischemia

Circ Res 67, 1990: 1481-1493

PHELPS M., HOFFMAN E., SELIN C., HUANG S., ROBINSON G., MACDONALD N.,
SCHELBERT H., KUHL D.

Investigation of [¹⁸F]2-fluoro-2-deoxyglucose for the measure of myocardial glucose
metabolism

J Nucl Med 19, 1978: 1311-1319

PICKER L.J., WEISS L.M., MEDEIROS L.J., WOOD G.S., WARNKE R.A.

Immunophenotypic criteria for the diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma

Amer J Pathol 128, 1987: 181

RAHIMTOOLA S.H.

A perspective on the three large multicenter randomized clinical trials of coronary bypass
surgery for chronic stable angina

Circulation 72, 1985 Suppl.V: V123-V135

RAHIMTOOLA S. H.

The hibernating myocardium

J Am Heart 117, 1989: 211-221

RIEDE U.-N., DREXLER H.

Herzleitungsstörungen

In: Riede U.-N., Schaefer H.-E. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pathologie, 4. Auflage

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1995: 480-495

RIEDE U.-N., IHLING C., SCHAEFER H.-E.

Arterien

In: Riede U.-N., Schaefer H.-E. (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pathologie, 4.Auflage

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York 1995: 436-460

ROSS R.

The pathogenesis of atherosclerosis – an update

N Engl J Med 314, 1986: 488-499

ROSS J.R.J.

Myocardial perfusion-contraction-matching. Implications for coronary heart disease and
hibernation

Circulation 83, 1991: 1076-1083

ROTHLIN M., BING R.

Extraction and release of individual free fatty acids by the heart and fat depots

J Clin Invest 40, 1961: 1380-1384

ROWSELL H.C., MUSTARD J.F., DOWNIE H.G.

Experimental atherosclerosis in swine

Ann N Y Acad Sci 127, 1965: 743-762

RUSSELL M., COLEMAN E., CHU A., COBB F.

Relation of fluorodeoxyglucose uptake in ischemic myocardium to myocardial blood flow

Circulation 80, 1989 [Suppl II]: II-638-640

SANDERSLEBEN J. VON

Kreislauforgane

In: Dämmrich K., Sandersleben J. von, Dahme E. (Hrsg.): Pathologische Histologie der Haustiere

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1989: 79-105

SCHAPER W.

Control of coronary angiogenesis

Eur Heart J 16, 1995: 66-68

SCHAPER W., FLAMENG W., DE BRABER M.

Comparative aspects of coronary collateral circulation

Adv Exp Med Biol 22, 1972: 267-276

SCHAPER W., JAGENEAU A., XHONNEUX R.

The development of collateral circulation in the pig and dog heart

Cardiologia 51, 1967: 321-335

SCHELBERT H., BUXTON D.

Insights into coronary artery disease gained from metabolic imaging

Circulation 78, 1988: 496-505

SCHELBERT H., HENZE E., SCHON H., HANSEN H., SELIN C., HUANG S., BARRIO J., PHELPS M.

C-11 palmitate for the non-invasive evaluation of regional myocardial fatty acid metabolism with positron computed tomography. III. In-vivo demonstration of the effects of substrate availability on myocardial metabolism

Am Heart J 105, 1983: 492-504

SCHELBERT H., PHELPS M., HUANG S., MAC DONALD N.S., HANSEN H., SELIN C.

N-13 ammonia as an indicator of myocardial blood flow

Circulation 63, 1981: 1259-1272

SCHELBERT H., WISENBERG G., PHELPS M., GOULD K., HENZE E., HOFFMAN E., GOMES A., KUHLE D.

Non-invasive assessment of coronary stenoses by myocardial imaging during pharmacologic coronary vasodilation: VI. Detection of coronary artery disease in man with intravenous N-13 ammonia and positron computed tomography

Am J Cardiol 49, 1982: 1197-1207

SCHEUNERT A., TRAUTMANN A.

Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7. Auflage

Paul Parey Berlin, Hamburg 1987, 217: 258-259

SCHICHA H., VOTH E.

Qualitätssicherung in der Kardiologie: Nuklearmedizin
Z Kardiol 83 (Suppl 6) 1994: 27-36

SCHICHA H., VOTH E.

Nuklearmedizinische Untersuchungsmethoden
In: Erdmann E. (Hrsg.): Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße,
5. Auflage
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 2000: 181-196

SCHULZ R., GUTH B.D., PIEPER K., MARTIN C., HEUSCH G.

Recruitment of an inotropic reserve in moderately ischemic myocardium at the expense of
metabolic recovery: a model of short-term hibernation
Circ Res 70, 1992: 1282-1295

SCHUMMER A., HABERMEHL K.H.

Blutgefäße, Bau und Funktion
In: Nickel R., Schummer A., Seiferle E. (Hrsg.): Lehrbuch der Anatomie der Haustiere,
Band III, 2. Auflage
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1984: 9

SCHWAIGER M., NEESE R., ARAUJO L., WYNS W., WISNESKI J., SOCHOR H.,
SWANK S., KULBER D., SELIN C., PHELPS M., SCHELBERT H., FISHBEIN M.

Sustained non-oxidative glucose utilization and depletion of glycogen in reperfused canine
myocardium
J Am Coll Cardiol 13, 1989: 745-754

SCHWAIGER M., SCHELBERT H., ELLISON D., HANSEN H., YEATMAN L., VINTEN-
JOHANSEN J., SELIN C., BARRIO J., PHELPS M.

Sustained regional abnormalities in cardiac metabolism after transient ischemia in the chronic
dog model
J Am Coll Cardiol 6, 1985: 336-347

SHEN Y.T., KUDEJ R.K., BISHOP S.P., VATNER S.F.

Inotropic reserve and histological appearance of hibernation myocardium in conscious pigs
with ameroid-induced coronary stenosis
Bas Res Cardiol 91, 1996: 479-485

SHIOJIMA I., AIKAWA M., SUZUKI J., YAZAKI Y., NAGAI R.

Embryonic smooth muscle myosin heavy chain SMemb is expressed in pressure-overloaded
cardiac fibroblasts
Jpn Heart J 40, 1999: 803-818

SIMÕES M.V., EGERT S., ZIEGLER S., MIYAGAWA M., REDER S., LEHNER T.,
CHARRON M.J., SCHWAIGER M.

Delayed response of stimulated FDG uptake in GLUT 4-null mice
J Nucl Med 5, 2003: 190

SLOT J.W., GEUZE H.J., GIGENGACK S.

Translocation of the glucose transporter GLUT4 in cardiac myocytes of the rat
Proc Natl Acad Sci USA 88, 1991: 7815-7819

- SOBEL B., GELTMAN E., TIEFENBRUNN A., JAFFE A., SPADARO J., TER-
POGOSSIAN M., COLLEN D., LUDBROOK P.
Improvement of regional myocardial metabolism after coronary thrombolysis induced with
tissue-type plasminogen activator or streptokinase
Circulation 69, 1984: 983-990
- SOBEL B., WEISS E., WELCH M., SIEGEL B., TER-POGOSSIAN M.
Detection of remote myocardial infarction in patients with positron emission transaxial
tomography and intravenous C-11 palmitate
Circulation 55, 1977: 853-857
- SOCHOR H., SCHWAIGER M., SCHELBERT H., HUANG S., ELLISON D., HANSEN H.,
SELIN C., PARODI O., PHELPS M.
Relationship between TI-201, Tc-99m (Sn) pyrophosphate and F-18-2-deoxyglucose uptake
in ischemically injured dog myocardium
Am Heart J 114, 1987: 1066-1077
- SOKOLOFF L., REICHVICH M., KENNEDY C.
The [C] deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization:
theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rat
J Neurochem 28, 1977: 897-916
- ST LOUIS J.D., HUGHES G.C., KYPSON A.P., DEGRADO T.R., DONOVAN C.L.,
COLEMAN R.E., YIN B., STEENBERGEN C., LANDOLFO K.P., LOWE J.E.
An experimental model of chronic myocardial hibernation
Ann Thorac Surg 69, 2000: 1351-7
- STEELE P.M., CHESEBRO J.H., STANSON A.W., HOLMES D.R., DEWANJEE M.K.,
BADIMON L., FUSTER V.
Balloon angioplasty – natural history of the pathophysiological response to injury in a pig
model
Circ Res 57, 1985: 105-112
- STRAUER B.E.
Koronare Herzkrankheit
In: Riecker G. (Hrsg.): Klinische Kardiologie, 3. Auflage
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg 1991: 357-471
- SULYMA M.G.
Wörterbuch Kardiologie, 2. Auflage
Medikon-Verlag, München 1985: 22, 390, 508-509
- SUN D., NGUYEN N., DEGRADO T.R.
Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the
plasma membrane of cardiac myocytes
Circulation 89, 1994: 793-798
- TAEGTMEYER H.
Switching metabolic genes to build a better heart
Circulation 106, 2002: 2043-2045

THOMAS C.

Histopathologie, 11. Auflage

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York 1992: 56-90

UNGER E.F., BANAI S., SHOU M.

A model to assess interventions to improve collateral blood flow: continuous administration of agents into the left coronary artery in dogs

Cardiovasc Res 27, 1993: 785-791

VANOVERSCHELDE J.L., WIJNS W., DEPRE C.

Mechanisms of chronic regional postischemic dysfunction in humans: new insights from the study of noninfarcted collateral-dependent myocardium

Circulation 87, 1993: 1513-1523

VANOVERSCHELDE J.L., WIJNS W., BORGERS M.

Chronic myocardial hibernation in humans: from bedside to bench

Circulation 95, 1997: 1961-1971

VAN ROSSUM A.C.

Magnetic resonance angiography of the coronary arteries: diagnostic perspectives

Z Kardiol 86 (Suppl II), 1997: 141-147

VESSELINOVITCH D.

Animal models and the study of atherosclerosis

Arch Pathol Lab Med 112, 1988: 1011-1017

WAGNER J.

Praktische Kardiologie

Walter de Gruyter, Berlin, New York 1985: 285-288

WHEATHER P.R., BURKITT H.G., STEVENS A., LOWE J.S.

Der Infarkt

In: Weather P.R., Burkitt H.G., Stevens A., Lowe J.S. (Hrsg.): Grundlagen der Histopathologie

Enke-Verlag, Stuttgart 1987: 70-76

WHITE C.J., RAMEE S.R., BANKS A.K., WIKTOR D., PRICE H.L.

The Yucatan miniature swine: an atherogenic model to assess the early patency rates of an endovascular stent

In: Swindle M.M. (Hrsg.): Swine as model in biomedical research

Iowa State University Press, Ames, USA 1992: 157-161

WIJNS W., VATHER S.P., CARNICI P.G.

Hibernating myocardium

N Engl J Med 339, 1998: 173-181

LITERATURVERZEICHNIS

WOLPERS H.G., SCHWAIGER M.

Analyse des Myokardstoffwechsels bei koronarer Herzkrankheit durch Positronen-Emissions-Tomographie

In: Heusch, G. (Hrsg.): Pathophysiologie und rationale Pharmakotherapie der Myokardischämie

Steinkopff Verlag, Darmstadt 1990: 63-84

YOUNG L.H., RENFU Y., RUSSELL R.

Low-flow ischemia leads to translocation of canine heart GLUT4 and GLUT1 glucose transporters to the sarcolemma In-vivo

Circulation 95, 1997: 415-422

8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Herzinfarkt beim Menschen im zeitlichen Ablauf.....	10
Tabelle 2: Versuchsplan, tabellarisch dargestellt.....	30
Tabelle 3: Histologie- Code	38
Tabelle 4: Histologische Färbungen zur Charakterisierung eines Hibernierenden Myokards.	39
Tabelle 5: Absolute Kollagenfläche (μm^2) der einzelnen Schnitte	49
Tabelle 6: Relative Kollagenfläche (%) der einzelnen Schnitte	50
Tabelle 7: Histomorphometrisch ermittelte Kollagenfläche im LV und Werte der Wandbewegungsmessung in der LCX.....	55
Tabelle 8: Histomorphometrisch ermittelte Kollagenfläche in der LAD und Werte der Wandbewegungsmessung in der LAD.....	56
Tabelle 9: Absolute Myofibroblastenfläche (μm^2) der einzelnen Schnitte	57
Tabelle 10: Relative Myofibroblastenfläche (%) der einzelnen Schnitte.....	58
Tabelle 11: Glykogenhaltige Zellen (%).....	61
Tabelle 12: T-Zellzahl/ mm^2	66

9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1a: Facies auricularis eines Schweineherzens	4
Abb. 1b: Facies atrialis eines Schweineherzens	4
Abb. 2: PET-Prinzip	18
Abb. 3: Drei- Kompartiment- Modell der Verstoffwechselung von N-13-Ammoniak	19
Abb. 4: Myokardialer ¹⁸ FDG- Stoffwechsel	20
Abb. 5: Versuchsplan	29
Abb. 6a: Stent auf Kanüle	31
Abb. 6b: Stent auf Ballonkatheter.....	31
Abb. 7: Schema zur PET-Rekonstruktion	35
Abb. 8: Schema der APAAP- Methode	40
Abb. 9: Schema der APAAP- Methode (modifiziert)	42
Abb. 10: Schema der LSAB- Methode	43
Abb. 11: Schwein 8, rechter Vorhof, EvG-Färbung, 2,5x.....	43
Abb. 12: Schwein 10, LAD-Region, EvG-Färbung, 2,5x.....	44
Abb. 13: Herz von Schwein Nr. 7 mit Infarktstellen im Versorgungsbereich der LAD (=linke Koronararterie	46
Abb. 14: koronare Schnitte des Herzens von Schwein 7 mit Infarktstelle im Bereich der linken Herzkammer und des Septums	47
Abb. 15: Herz von Schwein 15 mit einem großen Infarkt im Bereich der Apex cordis	47
Abb. 16: Relative Kollagenfläche (%) 28 Tage p. OP in den LAD- und Kontrollregionen....	50
Abb. 17: Relative Kollagenfläche (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen.....	51
Abb. 18: Schwein 6, rechter Ventrikel, EvG-Färbung, 2,5x.....	52
Abb. 19: Relative Kollagenfläche (%) 7 Tage post OP	53
Abb. 20: Relative Kollagenfläche (%) 28 Tage post OP	54
Abb. 21: Graghische Darstellung der Korrelation Kollagengehalt/Wandbewegung (Kontrolle).....	55
Abb. 22: Graghische Darstellung der Korrelation Kollagengehalt/Wandbewegung (LAD)....	56
Abb. 23: Relative Myofibroblastenfläche (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen.	58

Abb. 24: Relative Myofibroblastenfläche (%) 7 Tage post OP	59
Abb. 25: Relative Myofibroblastenfläche (%) 28 Tage post OP	60
Abb. 26: Glykogenhaltige Zellen (%) 28 Tage p. OP in den LAD- und Kontrollregionen.....	62
Abb. 27: Glykogenhaltige Zellen (%) in den LAD-Regionen und Kontrollregionen.....	62
Abb. 28: Schwein 8, LAD-Region (mismatch), PAS-Färbung, 40x.....	63
Abb. 29: Schwein 12, LAD-Region (post insulin mismatch), PAS-Färbung, 40x.....	63
Abb. 30: Glykogenhaltige Zellen (%) 7 Tage post OP.....	64
Abb. 31: Glykogenhaltige Zellen (%) 28 Tage post OP.....	65
Abb. 32: Schwein 15, rechter Ventrikel, CD 3-Färbung, 20x.....	67
Abb. 33: Schwein 15, LAD-Region (match), CD 3-Färbung, 20x.....	67
Abb. 34: T-Zellzahl/mm ² 7 Tage post OP.....	68
Abb. 35: T-Zellzahl/mm ² 28 Tage post OP.....	69

10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
α -HBDH	α - Hydroxybutyrat- Dehydrogenase
α -SMA	α - smooth muscle actin
AMP	Adenosinmonophosphat
atm	Atmosphäre
ATP	Adenosintriphosphat
bzw.	beziehungsweise
C	Kohlenstoff
ca.	circa
CHM	Chronisches hibernierendes Myokard
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
cran.	cranial, cranialis
dext.	dexter, dextra, dextrum
d. h.	das heißt
Diss.	Dissertation
dist.	distal, distalis
Dr.	Doktor
EKG	Elektrokardiogramm
et al.	et alii
EvG	Elastica van Gieson
evtl.	eventuell
F	Fluor
Fa.	Firma
FDG	Fluor-Deoxyglukose
g	Gramm
GLUT	Glukosetransporter
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
Habil.	Habilitation
HDL	high density lipoprotein

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

H.E.	Hämatoxylin-Eosin
HM	Hibernierendes Myokard
I	Jod
IE / IU	internationale Einheiten / International Units
i.m.	intramuskulär
intra OP	intra operationem
i.v.	intravenös
Kap.	Kapitel
KCL	Kaliumchlorid
KG	Körpergewicht
kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	left anterior descending (coronary artery)
LCX	left circumflex (coronary artery)
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	low density lipoprotein
LV	linker Ventrikel
Max.	Maximal / Maximalwert
mCi	Millicievert
Med.	Medizinische
mg	Milligramm
min.	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
N	Ammoniak
Na	Natrium
Nr.	Nummer
O	Sauerstoff
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
PAS	Perjodsäure-Schiffsches Reagenz

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

PBS	Phosphat buffered saline
PET	Positronen Emissions Tomographie
pH	negativer Logarithmus Wasserstoffionenkonzentration
p.o.	per os
post OP	post operationem
prox.	proximal, proximalis
Prof.	Professor
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
PTFE	Polytetrafluoroethylene
qm	Quadratmeter
R.	Ramus
RCX	Ramus circumflexus
S.	Seite
s.c.	subkutan
SD	Standardabweichung
sec.	Sekunden
sin.	sinister, sinistra, sinistrum
sog.	sogenannter, -e, -es
Tab.	Tabelle
tgl.	täglich
u.a.	unter anderem
V.	Vena
v.a.	vor allem
vet. med.	veterinärmedizinisch
Vorb.	Vorbereitung
WHO	Weltgesundheitsorganisation/ World Health Organization
z.B.	zum Beispiel
° C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
%	Prozent
§	Paragraph

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<	kleiner
>	größer

11 DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl danke ich herzlich für die Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Bei Herrn Univ. Prof. Dr. med. B. Gänsbacher, Direktor des Institutes für Experimentelle Chirurgie der Technischen Universität München, möchte ich mich für die Arbeitsmöglichkeit bedanken.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für seine stets freundliche und liebevolle Unterstützung und Beratung während aller Phasen des Projektes, für die Durchführung der Operationen und für die geduldige Korrektur der Arbeit.

Gleichmaßen möchte ich mich auch bei Frau Dr. med. vet. J. Henke für die Durchführung der Operationen und bei Frau Dr. med. vet. B. Eissner für die Korrektur der Arbeit und die stets aufmunternden Worte bedanken.

Frau Dr. med. M. Rudelius, Herrn Dr. med. T. Richter und Frau R. Hegenlohe gilt mein besonderer Dank für die Herstellung und Beratung bei der Auswertung der histologischen Präparate.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Frau Dr. S. Egert bedanken, die stets für wertvolle Hinweise und Anregungen Zeit fand.

Herrn Prof. Dr. med. P. Boekstegers möchte ich für die Implantation des Stents ganz herzlich danken.

Ein großes Dankeschön geht an alle Mitarbeiter des Institutes für Experimentelle Chirurgie der TU München, die mich immer mit großer Hilfsbereitschaft und Engagement während der Durchführung des Projektes unterstützt haben.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Dr. med. M. Simões ganz herzlich bedanken, der mir stets bei den Auswertungen der PET-Ergebnisse mit seiner freundlichen Art zur Seite stand.

DANKSAGUNG

Bei Frau S. Reder, Frau T. Lehnert sowie den MTA's der Nuklearmedizin möchte ich mich für die oftmals lustige und geduldige Zusammenarbeit bei der Studie bedanken.

Besonders herzlich danken möchte ich meinen Eltern für ihre großartige und liebevolle Unterstützung, ihr Vertrauen und ihre Geduld.

Herrn Dr. med. vet. W. Beck möchte ich für die freundliche Beratung und die guten Anregungen beim Erstellen dieser Arbeit sehr danken.

Frau Dr. med. vet. S. Weber danke ich sehr für ihre großartige und lebenswerte Hilfe.

Und last but not least allen Freunden, die mich jederzeit mit viel Verständnis und Geduld während dieser Zeit unterstützten und Hannes Schandl, der mir bei allen computertechnischen Problemen mit Rat und vor allem mit Tat zur Seite stand.

12 LEBENS LAUF

Name:		Christina Nimz
Geburtsdatum:		01.11.1974
Geburtsort:		Wiesbaden
Staatsangehörigkeit:		deutsch
Eltern:		Bettina Nimz- Guillaume, geb. Guillaume, Lehrerin Dr. med. vet. Arnt Günter Nimz prakt. Tierarzt
Geschwister:		Gregor Nimz Student
Schulbildung:	1981- 85	Grundschule in Wiesbaden
	1985- 94	Oraniengymnasium in Wiesbaden
Schulabschluss:	Sommer 1994	Abitur
Auslandsaufenthalt:	09/1994 – 03/1995	Princeton, USA
Studium:	1995- 97	Veterinärmedizinische Universität zu Budapest
	SS/ 97	Physikum
	1997- 2001	Veterinärmedizinische Fakultät der Universität Leipzig
	SS/ 98	1. Staatsexamen
	SS/ 99	2. Staatsexamen
	WS 00/01	3. Staatsexamen
Approbation:	01.03.2001	
Berufliche		
Tätigkeiten:	06/2001	ambulante Tierrettung München e.V.
	10/2001	Geschäftsführerin der Tierrettung München e.V.
	06/2002	Praxisvertretung in Wiesbaden (Dr. med. vet. A.G. Nimz)
	06/2003	Praxisvertretung in Wiesbaden (Dr. med. vet. A.G. Nimz) Praxisvertretung in München (Dr. med. vet. S. Weber)
Promotion:	10/ 2001	Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Experimentelle Chirurgie und Onkologie der TU München